

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**TESIS DOCTORAL**

**Sensores fotoquímicos luminiscentes sobre fibra óptica para  
la monitorización in situ de la calidad del biometano**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Idoia Urriza Arsuaga**

**Directores**

**Guillermo Orellana Moraleda**  
**Maximino Bedoya Gutiérrez**

**Madrid**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
Departamento de Química Orgánica



UNIVERSIDAD  
**COMPLUTENSE**  
MADRID

**SENSORES FOTOQUÍMICOS  
LUMINISCENTES SOBRE FIBRA ÓPTICA  
PARA LA MONITORIZACIÓN *IN SITU* DE LA  
CALIDAD DEL BIOMETANO**

TESIS DOCTORAL QUE PRESENTA

**IDOIA URRIZA ARSUAGA**

Directores

**Guillermo Orellana Moraleda**  
**Maximino Bedoya Gutiérrez**

**Madrid, 2019**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
Departamento de Química Orgánica



UNIVERSIDAD  
**COMPLUTENSE**  
MADRID

TESIS DOCTORAL

**Sensores fotoquímicos luminiscentes  
sobre fibra óptica para la monitorización  
*in situ* de la calidad del biometano**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Idoia Urriza Arsuaga**

Directores

**Guillermo Orellana Moraleda**  
**Maximino Bedoya Gutiérrez**

**Madrid, 2019**







U N I V E R S I D A D  
**COMPLUTENSE**  
M A D R I D

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS  
PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. IDOIA URRIZA ARSUAGA,  
estudiante en el Programa de Doctorado EN QUÍMICA ORGÁNICA RD99/2011,  
de la Facultad de CIENCIAS QUÍMICAS de la Universidad Complutense de  
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y  
titulada:

SENSORES FOTOQUÍMICOS LUMINISCENTES SOBRE FIBRA ÓPTICA PARA  
LA MONITORIZACIÓN *IN SITU* DE LA CALIDAD DEL BIOMETANO

y dirigida por: GUILLERMO ORELLANA MORALED A Y  
MAXIMINO BEDOYA GUTIÉRREZ

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 9 de JULIO de 2019

Fdo.:

Idoia Urriza Arsuaga





Universidad Complutense de Madrid  
Facultad de Ciencias Químicas  
Dpto. Química Orgánica I

Ciudad Universitaria  
28040 Madrid  
Tfno.: 91.394.42.31  
E-mail: qorgan1@ucm.es

D. GUILLERMO ORELLANA MORALEDA, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD, DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA I DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID Y D. MAXIMINO BEDOYA GUTIÉRREZ, DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS, DE EQUILAB S.A.,

HACEN CONSTAR,

Que el trabajo titulado “SENSORES FOTOQUÍMICOS LUMINISCENTES SOBRE FIBRA ÓPTICA PARA LA MONITORIZACIÓN *IN SITU* DE LA CALIDAD DEL BIOMETANO” ha sido realizado bajo su dirección en el Grupo de Sensores Químicos Ópticos y Fotoquímica Aplicada (GSOLFA), de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, por la Licenciada en Química Dña. Idoia Urriza Arsuaga, y autorizan su presentación para ser calificada como tesis doctoral.

Y para que conste, firmamos el presente certificado en:

Madrid, a 9 de julio de 2019.

Fdo: Guillermo Orellana Moraleda

Fdo: Maximino Bedoya Gutiérrez

Fdo: Idoia Urriza Arsuaga



## Agradecimientos

Para comenzar, me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a las dos personas que me han guiado este viaje: al Prof. Guillermo Orellana Moraleda por haber confiado en mí y haberme dado la oportunidad de participar en este proyecto, pero sobretudo por haberme dedicado su tiempo y haberme enseñado a ser mejor científica y profesional. Al Dr. Maximino Bedoya Gutiérrez por haberme enseñado tantas cosas en estos cuatro años y sobretudo agradecerle por estar siempre ahí, dispuesto a ayudar, escuchar y aconsejar, siempre con una actitud positiva y alegre. Me siento muy afortunada de haber trabajado con dos grandes expertos en el mundo de los sensores ópticos, y dos magníficos científicos y profesionales.

Asimismo, quiero agradecer a Naturgy Energy Group (anteriormente Gas Natural Fenosa, Madrid) por la financiación de este trabajo de investigación, dentro del proyecto Smart Green Gas, subvencionado por el programa CIEN del CDTI (ref. IDI-20141349) y cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional. Agradezco enormemente la colaboración de Inés Conde, Piedad Martínez, Carmen Guinea y John Chamberlain de NEG, durante todo el proyecto, y de Raul Cano y Pilar Icaran de FCC Aqualia (Madrid, Spain) en la instalación y seguimiento de los sensores en la planta de producción de biometano de Jerez de la Frontera.

Agradecer también al Dpto. de Química Orgánica y a todos sus integrantes, a la Facultad de Ciencias Químicas, y a los Centros de Asistencia a la Investigación (CAI) de Resonancia Magnética Nuclear y de Espín Electrónico y de Espectrometría de Masas, por su recibimiento, ayuda y apoyo durante estos cuatro años.

A cada una de las personas que forman y han formado parte del grupo GSOLFA. Quiero agradecer a las profesoras María Cruz Moreno Bondi, Ana María Gutiérrez Carreras, María Concepción Pérez Conde, Fernando Navarro Villoslada, Ana Belén Descalzo López, Elena Benito Peña y Javier Lucas Urraca Ruiz por su acogida, ayuda y apoyo inestimable. Agradecer también a Nuria Martín y Beatriz Bedoya por la gran labor que hacen por el grupo. Agradezco enormemente a quienes han sido y son mis compañeros de laboratorio, por echarme una mano siempre que lo he necesitado y por los buenos momentos que hemos compartido dentro y fuera del laboratorio. Por todas esas tardes de Lecumberri y Sierra, por todos los cumpleaños y despedidas de soltero celebrados, y por esos maravillosos viajes (Oporto, Viena, Graz, Salzburgo, Bruselas, Gante, Brujas, Napoles, Pompeya, Pamplona, Mochales). A la Dra. Francesca Salis por sus momentos divertidos con su inconfundible risa y por supuesto, sus momentos de enfado. A Guido Ielasi por su afabilidad y jovialidad. A la Dra. Riikka Peltomaa, por su amabilidad y por tantos momentos que hemos vivido juntas. A Lidia Gómez Arribas y al Dr. Alberto Rico Yuste, mis compis del laboratorio de la cuarta, por vuestra alegría y buena

conversación. No me puedo olvidar de mis dos Joses (Jose Ángel de la Torre González y Jose Quílez Albuquerque), porque habéis inundado el laboratorio de buen rollo y alegría. Los tres hemos formado un gran equipo (PQM). Gracias Jose Ángel por hacerme reír tanto. Ese sentido del humor y esa gracia que tienes han sido claves en esta última etapa. Agradecer también a mis compañeros de la tercera de orgánica: María del Mar Darder Amengual, Dr. Luis Serrano González y Dr. Miguel Gómez Mendoza; de la tercera de analítica: Bettina Glahn Martínez y Álvaro Luque Uría; a mi biólogo favorito el Prof. Francisco Amaro Torres; a otros integrantes de GSOLFA con quien tuve el placer de coincidir: Dra. M<sup>a</sup> Victoria González de Vallejo, Dr. Keurison Figueredo Magalhães, Dra. Pramiti Hui, Irene Agudo Maestro, Javier Tejera Tejo y Tuğçe Kutlusoy; y a las nuevas incorporaciones de GSOLFA: David Martín Canton, María Cristina Monterde Serrano y Luis Calahorra Río. Por último, agradecer también a otros integrantes de GSOLFA que ya no estaban y he tenido el placer de conocer: la Dra. Raquel Chamorro, Silvia Vaghini y, en especial, la Dra. Irene Nuñez, a quien agradezco su apoyo incondicional y su gran amistad. Me llevo grandes recuerdos de todos vosotros.

Especialmente quiero agradecer a Javi Urraca, por estar siempre ahí, dispuesto a escucharme, a darme un consejo de los tuyos, por hacerme ver las cosas desde otros puntos de vista, porque al final siempre tenías razón, por tu sentido del humor, por tu apoyo incondicional, por tu cariño, porque en definitiva has hecho de mi tesis un camino mucho más fácil. Gracias por estar a mi lado.

A mis queridos “Químicos Navarros” porque sois como una segunda familia para mí. Gracias por todos los buenos momentos que hemos vivido y por lo que quedan. A mis compañeros de la UAH (Sara, Pedro y Juan), con quien inicié mi etapa investigadora y tengo tan buenos recuerdos. A mi gran amiga de la infancia Leire y a Garazi. Siempre habéis estado ahí cuando más lo he necesitado. Gracias Leire por tu gran empatía, tus buenos consejos y tu cariño. Gracias Garazi por tu compañía estos dos años en Madrid, por los viernes de tapeos y por esas conversaciones. Y a Virginia, por su sinceridad y por ser una persona con la que se puede hablar de todo.

Por último, agradecer a mi familia, especialmente a mis padres, mi hermano y mis tías “las Arsuagas”, por su cariño, apoyo incondicional, confianza y comprensión. Porque sin ellos no hubiese llegado hasta aquí. Eskerrik asko bihotzez guztioi.

Idoia

*A mi madre*





# Índice

---



Índice de figuras y tablas.....	1
Abreviaturas y símbolos.....	11
Resumen.....	21
Summary.....	29
Introducción.....	37
1. Biogás-biometano .....	39
1.1. Producción de biogás .....	40
1.2. Obtención del biometano (" <i>upgrading</i> ") .....	42
1.3. Normativa.....	46
1.4. El proyecto "Smart Green Gas" .....	47
2. Cuantificación de oxígeno molecular (O <sub>2</sub> ).....	51
2.1. Cromatografía de gases.....	51
2.2. Sensores electroquímicos .....	52
2.3. Sensores basados en óxidos metálicos semiconductores.....	55
2.4. Dispositivos paramagnéticos.....	56
2.5. Sensores ópticos.....	58
3. Cuantificación de H <sub>2</sub> S .....	69
3.1. Cromatografía en fase gaseosa .....	69
3.2. Sensores electroquímicos .....	70
3.3. Sensores basados en óxidos metálicos semiconductores.....	72
3.4. Sensores basados en polímeros conductores (CPSs) .....	73
3.5. Dispositivos ópticos.....	74
4. Cuantificación de NH <sub>3</sub> .....	81
4.1. Sensores electroquímicos .....	82
4.2. Sensores basados en óxidos metálicos semiconductores.....	83
4.3. Sensores basados en polímeros conductores (CPSs) .....	84
4.4. Sensores catalíticos .....	84
4.5. Dispositivos ópticos.....	85
5. Sensores químicos de fibra óptica .....	91
5.1. Sensor: definición, características y clasificación.....	91
5.2. Sensores ópticos.....	92
5.3. Sensores de fibra óptica .....	92
5.4. Sensores sobre fibra óptica.....	94

5.5. Métodos ópticos de medidas de luminiscencia .....	96
6. Complejos luminiscentes de Ru(II) .....	102
6.1. Propiedades estructurales .....	104
6.2. Propiedades físicas .....	105
6.3. Niveles de energía y estados electrónicos excitados .....	105
6.4. Propiedades espectroscópicas y fotofísicas .....	107
6.5. Fotoquímica de los complejos de Ru(II) .....	109
Objetivos .....	117
Publicaciones científicas .....	121
1. Luminescent sensor for O <sub>2</sub> detection in biomethane streams .....	127
1.1. Introduction .....	128
1.2. Materials and methods .....	131
1.3. Results and discussion .....	135
1.4. Conclusions .....	143
1.5. Supplementary material .....	144
1.5.1. Tables .....	144
1.5.2. Figures .....	146
1.5.3. Chemicals, supports and solvents .....	151
1.5.4. Luminescent probes preparation .....	151
Acknowledgements .....	158
References .....	158
2. Unprecedented reversible real-time luminescent sensing of H <sub>2</sub> S in the gas phase. ....	163
2.1. Introduction .....	164
2.2. Materials and methods .....	165
2.3. Results and discussion .....	168
2.4. Conclusions .....	177
2.5. Supporting information .....	178
2.5.1. State-of-the-art in H <sub>2</sub> S sensor devices .....	178
2.5.2. Field-deployable fiberoptic instrument developed in our research group ...	180
2.5.3. Luminescent probes synthesis and characterization .....	181
2.5.4. Figures .....	187
2.5.5. Additional tables .....	190
Acknowledgment .....	190
References .....	191

3. Tailored luminescent sensing of NH <sub>3</sub> in biomethane productions .....	197
3.1. Introduction.....	198
3.2. Materials and methods .....	200
3.3. Results and discussion.....	202
3.4. Conclusions.....	209
3.5. Supplementary material.....	210
3.5.1. State-of-the-art in H <sub>2</sub> S sensor devices .....	211
3.5.2. Luminescent probe synthesis and characterization.....	212
Acknowledgments.....	213
References.....	214
4. Microwave-assisted synthesis of Ru(II) polypyridyl complexes containing pyrenyl units and its potential application in luminescent oxygen sensing .....	217
4.1. Introduction.....	217
4.2. Materials and methods .....	220
4.3. Results and discussion.....	224
4.4. Conclusions.....	228
4.5. Supplementary material.....	229
4.5.1. Luminescence probes characterization.....	229
Acknowledgements.....	232
References.....	233
<b>Discusión integradora .....</b>	<b>237</b>
1. Ingeniería molecular, diseño y síntesis de indicadores luminiscentes.....	239
1.1. Indicadores de O <sub>2</sub> .....	239
1.2. Indicadores de H <sub>2</sub> S .....	245
1.3. Indicadores de NH <sub>3</sub> .....	247
2. Desarrollo de los sensores luminiscentes .....	249
2.1. Sensor para la monitorización de O <sub>2</sub> en biometano .....	250
2.2. Sensor para la monitorización de H <sub>2</sub> S en biometano.....	257
2.3. Sensor para la monitorización de NH <sub>3</sub> en biometano.....	263
3. Caracterización analítica de los sensores luminiscentes.....	268
3.1. Sensor luminiscente de O <sub>2</sub> .....	268
3.2. Sensor luminiscente de H <sub>2</sub> S.....	276
3.3. Sensor luminiscente de NH <sub>3</sub> .....	281
4. Validación analítica de los sensores luminiscentes en laboratorio.....	287

5. Monitorización <i>in situ</i> , a tiempo real y en continuo de O <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S y NH <sub>3</sub> en biometano ..	289
5.1. Validación de los sensores en la planta de producción de biometano.....	292
Conclusiones .....	297
Bibliografía .....	303







# Índice de figuras y tablas



## Figuras

<b>Figura 1.</b> Esquema del proceso de producción del biogás, del proceso de “upgrading” para la obtención de biometano y las aplicaciones de éstos.....	41
<b>Figura 2.</b> Esquema del proceso de producción del Bio-SNG.....	42
<b>Figura 3.</b> Esquema de las actividades realizadas en el diseño de un sistema de control inteligente remoto para la monitorización de la calidad del biometano. Mientras que la UVA y DiagnóstiQA han utilizado exclusivamente instrumentación comercial, la UCM ha desarrollado ex-novo un instrumento específico para la medida de los parámetros de calidad del biometano encomendados a ésta. ....	49
<b>Figura 4.</b> A) Equipo Agilent 490 Micro GC para el análisis del biogás. <sup>29</sup> B) Cromatograma típico que se obtiene con este equipo. <sup>29</sup> .....	52
<b>Figura 5.</b> A) Esquema del sensor potenciométrico de O <sub>2</sub> . B) Sensor potenciométrico de O <sub>2</sub> de Rosemount Inc. ....	54
<b>Figura 6.</b> A) Esquema del sensor electro-galvánico de O <sub>2</sub> . B) Celda electroquímica del sensor electro-galvánico de O <sub>2</sub> de Dräger. ....	55
<b>Figura 7.</b> Esquema del mecanismo de detección de los sensores de O <sub>2</sub> basados en óxidos metálicos semiconductores.....	56
<b>Figura 8.</b> Esquema del método magnetodinámico de detección de O <sub>2</sub> . ....	57
<b>Figura 9.</b> Esquema del método termomagnético de detección de O <sub>2</sub> . ....	57
<b>Figura 10.</b> A) Esquema del sensor TDLAS de O <sub>2</sub> . B) Sensor TDLAS comercial de O <sub>2</sub> de Siemens. <sup>84</sup> .....	58
<b>Figura 11.</b> A) Excitación de la molécula indicadora con radiación electromagnética, en la que tiene lugar la promoción de un electrón de un estado electrónico fundamental a un estado electrónico excitado. B) Desactivación radiante del estado electrónico excitado con la consiguiente emisión de luz (luminiscencia) en ausencia de desactivador alguno. C) Desactivación no radiante del estado electrónico excitado debido a la presencia de O <sub>2</sub> . Dicho proceso fotoinducido conduce al estado fundamental del indicador y a un estado electrónico excitado de la molécula de oxígeno denominado “oxígeno singlete” ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> ) de vida muy corta (μs). ....	59
<b>Figura 12.</b> Esquema de un sensor luminiscente para la detección y cuantificación de O <sub>2</sub> . ....	60
<b>Figura 13.</b> Estructura química de los típicos indicadores luminiscentes de O <sub>2</sub> . ....	63
<b>Figura 14.</b> Esquema de un sensor potenciométrico de H <sub>2</sub> S que emplea, como electrolito sólido, YSZ y como electrodo de trabajo, un hilo de Pt con NiMn <sub>2</sub> O <sub>4</sub> . ....	70
<b>Figura 15.</b> Esquema de un sensor amperométrico de H <sub>2</sub> S convencional. ....	71
<b>Figura 16.</b> Esquema del mecanismo de detección del sensor de H <sub>2</sub> S basado en óxidos metálicos semiconductores. ....	72
<b>Figura 17.</b> Detectores colorimétricos de H <sub>2</sub> S comerciales. A) Tubos detectores de H <sub>2</sub> S. B) Detector basado en una cinta de acetato de plomo. ....	74
<b>Figura 18.</b> Espectroscopía diferencial TDLS por sustracción de espectros (SpectraSensors). <sup>130</sup> .....	76
<b>Figura 19.</b> Determinación de H <sub>2</sub> S por espectroscopia de absorción UV-VIS. ....	76
<b>Figura 20.</b> Sondas fluorescentes de H <sub>2</sub> S basadas en la precipitación de sulfuros metálicos. <sup>139,140</sup> .....	78
<b>Figura 21.</b> Esquema de un sensor amperométrico de NH <sub>3</sub> convencional.....	82

<b>Figura 22.</b> Esquema del mecanismo de detección del sensor de NH <sub>3</sub> basado en óxidos metálicos semiconductores. ....	83
<b>Figura 23.</b> Tubos detectores de NH <sub>3</sub> , basados en el cambio de color del azul de bromofenol. <sup>200</sup> .....	86
<b>Figura 24.</b> Sensor luminiscente de NH <sub>3</sub> basado en la transferencia de energía FRET entre la cumarina y la fluoresceína.....	87
<b>Figura 25.</b> Esquema de los componentes básicos de un sensor químico sobre fibra óptica.....	94
<b>Figura 26.</b> Diagrama de Jablonksi simplificado con los procesos que tienen lugar entre la absorción y emisión de luz. ....	97
<b>Figura 27.</b> Determinación del tiempo de vida de emisión por detección con resolución temporal (A) y por detección sensible a la fase (B). ....	102
<b>Figura 28.</b> Estructura (pseudo)octaédrica del tris(2,2'-bipiridina)rutenio(II), [Ru(bpy) <sub>3</sub> ] <sup>2+</sup> . ...	104
<b>Figura 29.</b> Estereoisómeros <i>mer</i> y <i>fac</i> de un complejo metálico octaédrico con ligandos bidentados. ....	105
<b>Figura 30.</b> Orbitales moleculares en un complejo de Ru(II) homoléptico de simetría octaédrica constituido por ligandos simétricos de campo fuerte. ....	106
<b>Figura 31.</b> Diagrama de Jablonski de los estados de energía para un complejo de Ru(II) con ligandos α-diimina. Las flechas discontinuas hacen referencia a procesos de desactivación no radiantes. ....	106
<b>Figura 32.</b> Espectro de absorción del [Ru(bpy) <sub>3</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> en CH <sub>3</sub> CN a temperatura ambiente (a) y ampliación de su banda de absorción MLCT (negra en (b)). Reproducido de ref. 255. ....	108
<b>Figura 33.</b> Esquema general de las reacciones redox de los complejos de Ru(II) en el estado fundamental y en el estado excitado. ....	111
<b>Figura 34.</b> Ligandos poliazaheteroaromáticos con grupos dadores o aceptores de protones empleados en la síntesis de complejos de Ru(II) como indicadores de pH. DCB: Ácido 2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxílico. 5-OHP: 5-hidroxifenantrolina. DHP: 1,10-fenantrolina-4,7-diol. F15AP: 5-perfluorooctanamida-1,10-fenantrolina. PYIM: 2-(2'-piridil)imidazol. TAP: pirazino[2,3- <i>f</i> ]quinoxalina. PZTH: 2-(1,3-tiazol-2-il)pirazina. DEAM: <i>N</i> -(4'-[(dietilamino)metil]-2,2'-bipiridin-4-il)metil)- <i>N,N</i> -dietilamina. DEAB: <i>N</i> -(3'-[(dietilamino)metil]-2,2'-bipiridin-3-il)metil)- <i>N,N</i> -dietilamina. ....	112
<b>Figura 35.</b> Esquema general de las reacciones de transferencia de protón de un complejo de Ru(II) ácido con una especie básica. ....	113
<b>Figura 36.</b> Estructura de los ligandos (NN) sintetizados en nuestros laboratorios para su incorporación a iones complejos homolépticos de tipo [Ru(NN) <sub>3</sub> ] <sup>2+</sup> , con el fin de obtener indicadores fosforescentes de O <sub>2</sub> de largo tiempo de vida en su estado excitado emisor. DPP: 4,7-difenil-1,10-fenantrolina; DBPP: 4,7-bis[(1,1'-bifenil)-4-il]-1,10-fenantrolina; PPR: 5-pirenil-1,10-fenantrolina; BSPR: 4-metil-4'-[(1 <i>E</i> )-2-piren-1-ilvinil]-2,2'-bipiridina; DEPR: 4,4'-bis(2-piren-1-iletinil)-2,2'-bipiridina. ....	241
<b>Figura 37.</b> Rutas de síntesis del ligando DBPP. ....	242
<b>Figura 38.</b> Ciclo catalítico aceptado para explicar la reacción de acoplamiento Sonogashira. ....	243
<b>Figura 39.</b> Rutas sintéticas propuestas para la síntesis del ligando DEPR. ....	243
<b>Figura 40.</b> Estructura química de los iones complejos de Ru(II) luminiscentes propuestos para el desarrollo del sensor de H <sub>2</sub> S. RP3: tris(1,10-fenantrolina)rutenio(II); RP2T: [bis(1,10-fenantrolina)(1,4,5,8-tetrazafeantreno)]rutenio(II); RPT2: [(1,10-fenantrolina)bis(1,4,5,8-tetrazafeantreno)]rutenio(II); RT3: tris(1,4,5,8-tetrazafeantreno)rutenio(II); RBPZ3: tris(2,2'-bipirazina)rutenio(II). ....	246

<b>Figura 41.</b> Estructura química de los iones complejos de Ru(II) luminiscentes propuestos para el desarrollo del sensor de NH <sub>3</sub> . Na <sub>2</sub> [Ru(pbbs) <sub>2</sub> PYIM] <sup>2-</sup> : Disodio {bis[(1,10-fenantrolina-4,7-diil)bis(bencenosulfonato)][2-(2'-piridil)imidazol]}rutenio(II); [Ru(DPP) <sub>2</sub> DEAMB]Cl <sub>2</sub> : {bis(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)[4,4'-bis((dietilamino)metil)-2,2'-bipiridina]}rutenio(II) dicloruro. ....	248
<b>Figura 42.</b> Espectros de absorción UV-VIS y emisión de luminiscencia de los complejos RD3 (—), RB3 (---), RPPR3 (.....) y RBSPR3 (---) a (25 ± 2) °C, en disoluciones de acetonitrilo. Espectros de emisión en N <sub>2</sub> (λ <sub>exc</sub> = 460 nm). ....	250
<b>Figura 43.</b> Representación estructural de los soportes tipo sílice empleados en la fabricación de membranas sensoras de O <sub>2</sub> . ....	253
<b>Figura 44.</b> Membranas sensoras de O <sub>2</sub> preparadas en nuestro laboratorio, mediante la inmovilización de los indicadores luminiscentes en los distintos materiales poliméricos. De izquierda a derecha: RD3/S-5130; RD3/S-5130 formato pastilla; RD3/R812; RPPR3/DC3140; RPPR3/Empore C18. ....	253
<b>Figura 45.</b> A) Terminal sensible donde se coloca la membrana sensora de O <sub>2</sub> . B) Celda de medida de acero inoxidable que consta de cuatro canales conectados al equipo optoelectrónico a través de fibras ópticas. C) Equipo optoelectrónico “OSA Optical Sensor System” fabricado en nuestro laboratorio. ....	254
<b>Figura 46.</b> Respuesta de las membranas sensoras de O <sub>2</sub> en el intervalo de concentración de 0–30 ppmv. A) RD3/S-5130; B) RPPR3/S-5130. ....	255
<b>Figura 47.</b> Espectros de absorción UV-VIS y emisión de luminiscencia de los complejos RBPZ3 (—), RT3 (---), RPT2 (.....), RP2T (---) y RP3 (---) a (25.0 ± 0.2) °C, en disoluciones de acuosas de tampón fosfato (0.05 M, pH 10). Espectros de emisión en aire (λ <sub>exc</sub> = 450 nm). ....	258
<b>Figura 48.</b> A) Respuesta de los indicadores (τ) al HS <sup>-</sup> (0–3.1 mM) en disolución acuosa de tampón fosfato (0.05 M, pH 10.0), a (25.0 ± 0.1) °C. B) Representaciones de Stern-Volmer (τ <sub>0</sub> /τ vs. [HS <sup>-</sup> ]) obtenidas de la variación del tiempo de vida de emisión con la concentración de HS <sup>-</sup> . RBPZ3 (○), RT3 (□), RPT2 (◇), RP2T (Δ) y RP3 (*). ....	259
<b>Figura 49.</b> A) Sensibilidad, en términos de excursión de desfase de luminiscencia (Δφ = φ <sub>0</sub> – φ <sub>[H<sub>2</sub>S]</sub> ), del indicador RPT2 inmovilizado en los distintos soportes inorgánicos. B) Sensibilidad del indicador RPT2 inmovilizado en los mismos soportes inorgánicos pre-tratados con NaOH. Caudal 50 mL min <sup>-1</sup> , a 23 ± 2 °C y frecuencia de modulación de 156 kHz. Intervalos de confianza ± t s <sub>n-1</sub> n <sup>-1/2</sup> (nivel de confianza del 95%), n = 4. ....	260
<b>Figura 50.</b> Esquema visual de la activación de la superficie del gel de sílice con una disolución acuosa de NaOH. ....	261
<b>Figura 51.</b> Sensibilidad al H <sub>2</sub> S (0–10 ppmv) de las membranas sensoras (RPT2/SiO <sub>2</sub> -ME), empleando diferentes bases en el tratamiento del soporte. Caudal 50 mL min <sup>-1</sup> , a 23 ± 2 °C y frecuencia de modulación de 156 kHz. Intervalos de confianza ± t s <sub>n-1</sub> n <sup>-1/2</sup> (nivel de confianza del 95%), n = 4. ....	262
<b>Figura 52.</b> Espectro de absorción (---) y de emisión (—) del indicador Na <sub>2</sub> [Ru(pbbs) <sub>2</sub> PYIM] en disolución acuosa y en aire (λ <sub>exc</sub> = 460 nm). ....	264
<b>Figura 53.</b> Adsorción química y física del NH <sub>3</sub> en la superficie del gel de sílice. ....	266
<b>Figura 54.</b> Perfiles de respuesta temporal de las membranas sensoras Na <sub>2</sub> [Ru(pbbs) <sub>2</sub> PYIM]/S-5130 (A) y Na <sub>2</sub> [Ru(pbbs) <sub>2</sub> PYIM]/SiO <sub>2</sub> -ME tratada con HCl (B), en un intervalo de concentración de 0–16 ppmv de NH <sub>3</sub> . Medidas realizadas a (25.0 ± 0.2) °C, con un caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> y frecuencia de modulación de 78 kHz. ....	267
<b>Figura 55.</b> Perfiles de respuesta y rectas de calibrado de las membranas sensoras de O <sub>2</sub> a distintas concentraciones de analito. A) RB3/S-5130 y B) RD3/S-5130 en los intervalos de	

concentración 0–100.5 y 0–10000 ppmv. C) RB3/SCX y D) RD3/SCX en el intervalo de concentración de 0–153.2 ppmv. Caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> , frecuencia de modulación de 39 kHz, a (15.0 ± 0.2) °C. Intervalos de confianza $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95 %), $n = 5$ . .....	269
<b>Figura 56.</b> Representaciones de Stern-Volmer de los sensores luminiscentes de O <sub>2</sub> en los intervalos de concentración ensayados a (15.0 ± 0.2) °C. A) RB3/S-5130; B) RD3/S-5130; C) RB3/SCX; D) RD3/SCX. Intervalos de confianza $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95 %), $n = 5$ . .....	270
<b>Figura 57.</b> A) Superficie de calibración de la membrana sensora RB3/S-5130 en el intervalo de concentración de 0–1000 ppmv de O <sub>2</sub> y en el intervalo de temperaturas de 5–35 °C. B) Curvas de calibrado de la misma membrana sensora en el intervalo de concentración 0–122.6 ppmv de O <sub>2</sub> a distintas temperaturas. Caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> y frecuencia de modulación de 39 kHz. ....	273
<b>Figura 58.</b> Estabilidad de la respuesta del material luminiscente sensor RB3/S-5130 al O <sub>2</sub> en el intervalo de concentraciones de 0–122.6 ppmv (caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> , a (15.0 ± 0.2) °C y frecuencia de modulación de 39 kHz). ....	274
<b>Figura 59.</b> Respuesta al O <sub>2</sub> (0–122.6 ppmv) de la misma membrana sensora RB3/S-5130 antes (○) y después (□) de ser almacenada durante 1 año en un recipiente opaco y hermético (caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> , a (15.0 ± 0.2) °C y frecuencia de modulación de 39 kHz). Intervalos de confianza $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95 %), $n = 3$ . ....	275
<b>Figura 60.</b> Perfil de respuesta y recta de calibrado de la membranas sensora de H <sub>2</sub> S RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME a distintas concentraciones de analito (0–10 ppmv). Caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> , frecuencia de modulación de 156 kHz, a (25.0 ± 0.2) °C. Intervalos de confianza $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95 %), $n = 3$ . ....	276
<b>Figura 61.</b> A) Superficie de calibración de la membrana sensora RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME en el intervalo de concentración de 0–10 ppmv de H <sub>2</sub> S y en el intervalo de temperaturas de 15–35 °C (caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> y frecuencia de modulación de 156 kHz). B) Curvas de calibrado de la misma membrana sensora a distintas temperaturas. ....	278
<b>Figura 62.</b> A) Sensibilidad ( $\Delta\phi$ ) de la membrana sensora RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME al O <sub>2</sub> (0–21 %) y al H <sub>2</sub> S (0–10 ppmv) en función de la concentración de NaOH empleada en el tratamiento del soporte. B) Comparación de la sensibilidad ( $\Delta\phi$ ) de la membrana sensora RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME a 1000 ppmv de O <sub>2</sub> en CH <sub>4</sub> y a 10 ppmv de H <sub>2</sub> S en CH <sub>4</sub> . Caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> , frecuencia de modulación de 156 kHz, a 23 ± 2 °C. Intervalos de confianza $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95 %), $n = 3$ . ....	280
<b>Figura 63.</b> Comparación de la sensibilidad ( $\Delta\phi$ ) de la membrana sensora RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME a 20 ppmv de CH <sub>3</sub> SH en CH <sub>4</sub> y a 10 ppmv de H <sub>2</sub> S en CH <sub>4</sub> . Caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> , frecuencia de modulación de 156 kHz, a 23 ± 2 °C. Intervalos de confianza $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95 %), $n = 3$ . ....	280
<b>Figura 64.</b> Perfil de respuesta y recta de calibrado de la membrana sensora de NH <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> [Ru(pbbs) <sub>2</sub> PYIM]/SiO <sub>2</sub> -ME a distintas concentraciones de analito (0–20 ppmv). Caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> , frecuencia de modulación de 78 kHz, a (25.0 ± 0.2) °C. Intervalos de confianza $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95 %), $n = 3$ . ....	281
<b>Figura 65.</b> A) Superficie de calibración de la membrana sensora Na <sub>2</sub> [Ru(pbbs) <sub>2</sub> PYIM]/SiO <sub>2</sub> -ME en el intervalo de concentración de 0–20 ppmv de NH <sub>3</sub> y en el intervalo de temperaturas de 5–35 °C (caudal de gas de 50 mL min <sup>-1</sup> y frecuencia de modulación de 78 kHz). B) Curvas de calibrado de la misma membrana sensora a distintas temperaturas. ....	284

<b>Figura 66.</b> A) Perfil de respuesta temporal y recta de calibrado de la membrana sensora $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$ frente al $\text{O}_2$ (0–400 ppmv) a $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ . Intervalos de confianza $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$ (nivel de confianza del 95%). B) Superficie de calibración de la misma membrana sensora obtenida en el intervalo de concentración de 0–10000 ppmv de $\text{O}_2$ a distintas temperaturas (5–35 $^\circ\text{C}$ ). Medidas llevada a cabo a un caudal de gas de $50 \text{ mL min}^{-1}$ y a una frecuencia de modulación de 78 kHz. ....	285
<b>Figura 67.</b> Comparación de métodos empleando una recta de regresión BLS (izqda). Intervalo de confianza conjunto de la ordenada en el origen y la pendiente de la recta de regresión lineal BLS, a un nivel de confianza del 95 %. A) Sensor luminiscente de $\text{O}_2$ . B) Sensor luminiscente de $\text{H}_2\text{S}$ . C) Sensor luminiscente de $\text{NH}_3$ . ....	288
<b>Figura 68.</b> Sistema de almacenamiento del biometano y gasinera de la EDAR de Guadalete en Jerez de la frontera (España). ....	289
<b>Figura 69.</b> Unidad optoelectrónica y módulo de sensores instalados en la EDAR de Guadalete para la monitorización de $\text{O}_2$ , $\text{H}_2\text{S}$ y $\text{NH}_3$ en biometano. ....	290
<b>Figura 70.</b> Monitorización en continuo de la concentración de $\text{O}_2$ (.....), $\text{H}_2\text{S}$ (—) y $\text{NH}_3$ (— —) en la planta de producción de biometano en Jerez de la Frontera, con los sensores luminiscentes desarrollados. ....	291
<b>Figura 71.</b> Medidas de $\text{O}_2$ llevadas a cabo en la planta de producción de biometano por el sensor luminiscente (—), y por dos cromatógrafos de gases Agilent (● y ■) instalados todos en la caseta de control. ....	292
<b>Figura 72.</b> Medidas de $\text{H}_2\text{S}$ llevadas a cabo en la planta de producción de biometano por el sensor luminiscente (—), por un cromatógrafo de gases Agilent (●) y un analizador colorimétrico (.....), instalados todos en la caseta de control. ....	293
<b>Figura 73.</b> Medidas de $\text{NH}_3$ llevadas a cabo en la planta de producción de biometano por el sensor luminiscente (—) y por el detector electroquímico CTX300 (Oldham), instalados todos en la caseta de control. ....	294

## Tablas

<b>Tabla 1.</b> Composición indicativa del biogás obtenido bioquímicamente en vertederos y en digestores anaerobios y del <i>bio-syngas</i> obtenido termoquímicamente con una corriente de $\text{O}_2$ o de aire. ....	43
<b>Tabla 2.</b> Especificaciones técnicas definidas por distintos países de la Unión Europea para el uso del biometano como combustible para vehículos o para su inyección en la red de distribución de gas natural. <sup>18</sup> ....	46
<b>Tabla 3.</b> Especificaciones técnicas europeas del biometano para su inyección en la red de distribución del gas natural y para su uso como combustible de vehículos. ....	47
<b>Tabla 4.</b> Resumen de los sistemas de cuantificación de $\text{O}_2$ en fase gas más representativos. ....	67
<b>Tabla 5.</b> Algunos sensores comerciales de $\text{O}_2$ en fase gas. ....	68
<b>Tabla 6.</b> Recopilación bibliográfica de los sistemas de cuantificación de $\text{H}_2\text{S}$ en fase gas. ....	79
<b>Tabla 7.</b> Analizadores comerciales de $\text{H}_2\text{S}$ en fase gas. ....	80
<b>Tabla 8.</b> Recopilación bibliográfica de los sistemas de cuantificación de $\text{NH}_3$ en fase gas. ....	88
<b>Tabla 9.</b> Analizadores comerciales de $\text{NH}_3$ en fase gas. ....	90
<b>Tabla 10.</b> Resultados de la caracterización espectroscópica y fotoquímica de los cuatro indicadores de $\text{O}_2$ en acetonitrilo. ....	251



<b>Tabla 11.</b> Desfase de luminiscencia en ausencia de $O_2$ ( $\phi_0$ ) y sensibilidad de las membranas sensoras de $O_2$ , en términos de excursión de desfase de luminiscencia, en el intervalo de concentración de 0–30 ppmv ( $\Delta\phi_{0-30}$ ).....	254
<b>Tabla 12.</b> Caracterización espectroscópica y fotoquímica de los materiales luminiscentes sensores de $O_2$ . ....	256
<b>Tabla 13.</b> Resultados de la caracterización espectroscópica y fotoquímica de los indicadores de $H_2S$ . ....	258
<b>Tabla 14.</b> Características fotoquímicas de los indicadores de $NH_3$ en función del pH. ....	264
<b>Tabla 15.</b> Desfase de luminiscencia y sensibilidad de las membranas sensoras de $NH_3$ preparadas a partir de la inmovilización del indicador en el soporte sólido en disolución agua/acetonitrilo. ....	265
<b>Tabla 16.</b> Sensibilidad, tiempo de respuesta y recuperación de las membranas sensoras de $NH_3$ preparadas a partir de la inmovilización del indicador en el soporte sólido en acetonitrilo o en disolución acuosa de HCl. ....	266
<b>Tabla 17.</b> Sensibilidad, límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) de las membranas sensoras de $O_2$ . ....	271
<b>Tabla 18.</b> Repetibilidad de las membranas sensoras de $O_2$ basadas en los indicadores RD3 y RB3 inmovilizados en el soporte S-5130. ....	271
<b>Tabla 19.</b> Repetibilidad de las membranas sensoras de $O_2$ basadas en los indicadores RD3 y RB3 inmovilizados en el soporte SCX. ....	272
<b>Tabla 20.</b> Reproducibilidad de las membranas sensoras de $O_2$ RD3/S-5130 y RB3/S-5130. ..	272
<b>Tabla 21.</b> Dependencia de la respuesta del sensor de $O_2$ RB3/S-5130 con la temperatura. ....	274
<b>Tabla 22.</b> Características analíticas del sensor luminiscente de $H_2S$ (RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME) a $(25.0 \pm 0.2)$ °C. ....	277
<b>Tabla 23.</b> Repetibilidad y reproducibilidad de las membranas sensoras de $H_2S$ (RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME). ....	278
<b>Tabla 24.</b> Dependencia de la respuesta del sensor de $H_2S$ RP2T/SiO <sub>2</sub> -ME con la temperatura. ....	279
<b>Tabla 25.</b> Características analíticas del sensor luminiscente de $NH_3$ ( $Na_2[Ru(pbbs)_2PYIM]/SiO_2$ -ME) a $(25.0 \pm 0.2)$ °C. ....	282
<b>Tabla 26.</b> Repetibilidad y reproducibilidad de las membranas sensoras de $NH_3$ ( $Na_2[Ru(pbbs)_2PYIM]/SiO_2$ -ME). ....	283
<b>Tabla 27.</b> Dependencia de la respuesta del sensor de $NH_3$ $Na_2[Ru(pbbs)_2PYIM]/SiO_2$ -ME con la temperatura. ....	284





# Abreviaturas y símbolos



## Abreviaturas

5-OHP	5-hidroxifenantrolina
Alúmina N	Óxido de aluminio neutro
Alúmina B	Óxido de aluminio básico
ATEX	Atmósfera explosiva
B	Especie básica
Bio-SNG	Gas natural biosintético
BLS	Método de mínimos cuadrados bivariados
BOPR	4-Metil-4'-[(2-hidroxi-2-piren-1-il)etil]-2,2'-bipiridina
BPZ	2,2'-Bipirazina
BSPR	4-Metil-4'-[(1E)-2-piren-1-ilvinil]-2,2'-bipiridina
BTX	Benceno, tolueno y xileno
CCD	<i>Charge coupled device</i> (dispositivo de carga acoplada)
CDTI	Centro de Desarrollo Tecnológico Industrial
CE	Contraelectrodo
CEN	Comité Europeo de Normalización
CI	Conversión interna
CIEN	Consortios de Investigación Empresarial Nacional
CIS	Cruce intersistemas o entre sistemas
CMOS	<i>Complementary Metal Oxide Semiconductor</i> (semiconductor complementario de óxido metálico)
COS	Sulfuro de carbonilo
CPG	Vidrio de poro controlado
CPSs	Sensores basados en polímeros conductores
DPP	4,7-Difenil-1,10-fenantrolina
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octano
DBO	Demanda bioquímica (biológica) de oxígeno
DBPP	4,7-Bis[(1,1'-bifenil)-4-il]-1,10-fenantrolina
DC3140	Películas de silicona Dow Corning 3140
DCB	Ácido 2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxílico
DEAB	<i>N</i> -({3'-[(dietilamino)metil]-2,2'-bipiridin-3-il} metil)- <i>N,N</i> -dietilamina
DEAM	<i>N</i> -({4'-[(dietilamino)metil]-2,2'-bipiridin-4-il} metil)- <i>N,N</i> -dietilamina
DEAMB	4,4'-Bis((dietilamino)metil)-2,2'-bipiridina
DEPR	4,4'-Bis(2-piren-1-iletinil)-2,2'-bipiridina
DHP	1,10-Fenantrolina-4,7-diol

DIPA	Diisopropilamina
DMEA	Dimetiletanolamina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DPP	4,7-Difenil-1,10-fenantrolina
EBA	Asociación europea del biogás
EC	Etilcelulosa
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales
EDP	Energías de Portugal
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
Empore C18	Discos comerciales de PTFE con partículas de sílice C18
EN	Norma Europea
EU-OSHA	Agencia Europea para la Seguridad y la Salud en el Trabajo
ER	Electrodo de referencia
ESI	Ionización por electrospray (electropulverización)
Et <sub>3</sub> N	Trietilamina
EW	Electrodo de trabajo
F <sub>15</sub> AP	5-Perfluorooctanamida-1,10-fenantrolina
<i>Fac</i>	Diastereoisómero facial
FCC	Fomento de Construcciones y Contratas
FEDER	Fondo Europeo de Desarrollo Regional
FID	Detector de ionización de llama
FMA	Fluorescein acetato de mercurio
FOS	Sensores de fibra óptica
FPD	Detector fotométrico de llama
FRET	Transferencia de energía resonante de Förster
GaN	Nitruro de galio
GC	Cromatografía de gases
HA	Especie ácida
GNC	Gas natural comprimido
HBAN	6-Hidroxibenz[ <i>d,e</i> ]antracen-7-ona
HEMA	Metacrilato de 2-hidroxietilo
HPhNPF	9-Hidroxi-4,7-diperfluorooctil1H-fenalenona
HBANPF	6-Hidroxi-1,4-diperfluorooctil7H-benzo[ <i>de</i> ]antracen-7-ona
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i> (orbital molecular ocupado de mayor energía)
Ind	Indicador

ISO	Organización Internacional de Normalización
L	Ligando
LC	<i>Ligand-centered</i> (centrado en el ligando)
LED	<i>Light-emitting diode</i> (diodo emisor de luz)
LMCT	<i>Ligand-to-metal charge transfer</i> (transferencia de carga del ligando al metal)
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
LSFCO	$\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{Fe}_{0.8}\text{Co}_{0.2}\text{O}_3$
LUMO	<i>Lowest unoccupied molecular orbital</i> (orbital molecular ocupado de menor energía)
MC	<i>Metal-centered</i> (centrado en el metal)
MEA	Monoetanolamina
<i>Mer</i>	Diastereoisómero meridional
MINECO	Ministerio de Economía y Competitividad
MLCT	<i>Metal-to-ligand charge transfer</i> (transferencia de carga del metal al ligando)
MOF	<i>Metal-organic framework</i>
MS	Espectrómetro de masas
NASICON	Superconductor iónico de sodio
NH <sub>2</sub> -sílice	Gel de sílice funcionalizada con grupos amino
OEP	Octaetilporfirina
OEK	Octaetilcetoporfirina
Ormoils	<i>Organically-modified silicas</i> (sílices modificadas con compuestos orgánicos)
OSA	<i>Oxygen, sulfide, ammonia</i>
OSHA	Administración de Salud y Seguridad Ocupacional de los EEUU
Ox	Oxidante
P	1,10-Fenantrolina
Pani	Poli(anilina)
pbbs	1,10-Fenantrolina-4,7-diil-bis(bencenosulfonato)
PCBs	<i>Printed circuit boards</i> (placas de circuitos integrados)
PD	<i>Photodiode</i> (fotodiodo)
PDMS	Poli(dimetilsiloxano)
PET	Transferencia electrónica fotoinducida
phen	1,10-Fenantrolina



PE-co-GMA	Poli(etileno-co-metacrilato de glicidilo)
PMMA	Poli(metracrilato de metilo)
PMT	<i>Photomultiplier tube</i> (tubo fotomultiplicador)
ppbv	Partes por billón volumétricas
ppmv	Partes por millón volumétricas
pptv	Partes por trillón volumétricas
PPR	5-Pirenil-1,10-fenantrolina
PPy	Poli(pirrol)
PS	Poli(estireno)
PSA	<i>Pressure Swing Adsorption</i> (adsorción por cambio de presión)
PT	Promoción térmica
PTFE	Poli(tetrafluoroetileno)
PTMSP	Poli(1-trimetilsilil-1-propino)
PVC	Poli(cloruro de vinilo)
PYIM	2-(2'-Piridil)imidazol
PZTH	2-(1,3-Tiazol-2-il)pirazina
R812	Gel de sílice pirogénica hidrofóbica tratada con hexametildisilazano
RBPZ3	Tris(2,2'-bipirazina)rutenio(II) bis(hexafluorofosfato)
RBSRP3	Tris{4-metil-4'-[(1 <i>E</i> )-2-piren-1-ilvinil]-2,2'-bipiridina}rutenio(II) bis(hexafluorofosfato)
RD2DEAMB	{Bis(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)[4,4'-bis((dietilamino)metil)-2,2'-bipiridina]}rutenio(II) dicloruro
RB3	Tris(4,7-bis([1,1'-bifenil]-4-il)-1,10-fenantrolina)rutenio(II) dicloruro
RD3	Tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)ruthenio(II) bis(hexafluorofosfato)
Red	Reductor
RGO	Óxido de grafeno reducido
RMN	Resonancia magnética nuclear
RP2T	[Bis(1,10-fenantrolina)(1,4,5,8-tetrazafenantreno)]rutenio(II) bis(hexafluorofosfato)
RP3	Tris(1,10-fenantrolina)rutenio(II) dicloruro
RPPR3	Tris(5-pirenil-1,10-fenantrolina)rutenio(II) bis(hexafluorofosfato)
RPT2	[(1,10-Fenantrolina)bis(1,4,5,8-tetrazafenantreno)]rutenio(II) bis(hexafluorofosfato)
RSD	Desviación estándar relativa
RSH	Mercaptanos (tioles)
RTILs	Líquidos iónicos a temperatura ambiente

RS2D2PYIM	{Bis[(1,10-fenantrolina-4,7-diil)bis(bencenosulfonato)][2-(2'-piridil)imidazol]}rutenio(II) disodio
RSU	Residuos sólidos urbanos
RT	Temperatura ambiente
RT3	Tris(1,4,5,8-tetraazafenantreno)rutenio(II) dicloruro
RV	Relajación vibracional
S2D	1,10-Fenantrolina-4,7-diil)bis(bencenosulfonato)
S-5130	Gel de sílice pirogénica hidrofílica
SAX	Gel de sílice funcionalizada con grupos amino cuaternario
SCD	Detector quimioluminiscente de azufre
SCE	Electrodo de calomelanos saturado
SCX	Gel de sílice funcionalizada con grupos ácido bencenosulfónico
SiO <sub>2</sub> -ME	Microesferas de sílice
SPR	Resonancia de plasmones superficiales
SV	Stern-Volmer
T	1,4,5,8-Tetraazafenantreno
TAP	Pirazino[2,3-f]quinoxalina
TCD	Detector de conductividad térmica
TDLS	Espectroscopía de diodo láser sintonizable
TFPP	5,10,15,20-Tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)porfirina
THF	Tetrahidrofurano
TMSA	Trimetilsililacetileno
UCM	Universidad Complutense de Madrid
UE	Unión Europea
USC	Universidad de Santiago de Compostela
UV	Ultravioleta
UVa	Universidad de Valladolid
VIS	Visible
YSZ	Óxido de circonio (ZrO <sub>2</sub> ) estabilizado con óxido de itrio (Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )

## Símbolos

$A$	Absorbancia
$d_p$	Diámetro de partícula
$E^{(2+*/+)}$	Potenciales de reducción del estado excitado de los complejos de Ru(II)

$F$	Frecuencia de modulación
$I_F$	Intensidad de fluorescencia
$I_0$	Intensidad de emisión del estado excitado del indicador luminiscente en ausencia de analito
$I$	Intensidad de emisión del estado excitado del indicador luminiscente en presencia de analito
$K_A$	Constante de formación del complejo analito-indicador
$k_{nr}$	Constante de velocidad de desactivación no radiante
$k_q$	Constante de desactivación bimolecular del estado excitado
$K_{sv}$	Constante de Stern-Volmer
$P$	Permeabilidad
$pK_a$	Constante de acidez del estado fundamental del indicador luminiscente
$pK_{a1}^*$ y $pK_{a2}^*$	Constantes de acidez del estado excitado del indicador luminiscente
$S_0$	Estado electrónico fundamental
$S_1$	Estado electrónico excitado singlete
$T$	Temperatura
$T_1$	Estado electrónico excitado triplete
$T$	Tiempo
$t_{90}$	Tiempo de respuesta para un cambio de señal del 90 %
$t_{-90}$	Tiempo de recuperación para un cambio de señal del 90 %
$\Gamma$	Constante de velocidad de desactivación radiante
$\lambda_{abs}^{max}$	Longitud de onda del máximo de absorción
$\lambda_{em}^{max}$	Longitud de onda del máximo de emisión de luminiscencia
$\lambda_{exc}$	Longitud de onda de excitación
$\tau_0$	Tiempo de vida del estado excitado del indicador luminiscente en ausencia del analito
$\tau$	Tiempo de vida del estado excitado del indicador luminiscente en presencia del analito
$\tau_m$	Tiempo de vida de luminiscencia ponderado con los factores pre-exponenciales
$\Delta\phi$	Excursión del ángulo de desfase de la luminiscencia
$\phi$	Ángulo de desfase de la luminiscencia en presencia de analito
$\phi_0$	Ángulo de desfase de la luminiscencia en ausencia de analito
$\Phi_{em}$	Rendimiento cuántico de emisión





# Resumen

---



## **Sensores fotoquímicos luminiscentes sobre fibra óptica para la monitorización *in situ* de la calidad del biometano**

El biometano es una fuente de energía renovable que, dada su composición química similar al gas natural ( $\text{CH}_4$ ), puede ser inyectado en la red de distribución de gas natural o emplearse como biocombustible para vehículos. Este gas está adquiriendo gran interés en los últimos tiempos gracias a sus múltiples beneficios medioambientales, económicos y sociales. No obstante, para que el biometano se convierta en una alternativa real a otros combustibles, se requiere de avances tecnológicos que permitan obtener un biometano de alta calidad a partir de desechos orgánicos urbanos y agroindustriales, asegurando la calidad energética, la seguridad del consumidor y la protección de las infraestructuras.

La vía más común para la producción de biometano (generación bioquímica) consta de dos etapas: la descomposición anaerobia de la materia orgánica, que proporciona el denominado “biogás”, seguido de un segundo proceso de valorización, en el que se elimina o reduce el contenido de partículas, agua,  $\text{CO}_2$  y otros componentes minoritarios ( $\text{H}_2\text{S/RSH}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ) del biogás. Aunque el biometano está principalmente compuesto de metano ( $> 96\%$ ), puede contener trazas de otros gases como los mencionados.

La presencia de estas impurezas puede provocar problemas infraestructurales, de seguridad y medioambientales, dañando tanques de almacenamiento, motores o tuberías, provocando explosiones del gas o la emisión de contaminantes a la atmósfera como resultado de la combustión del biometano.

Tratando de evitar lo anterior, la Unión Europea ha publicado recientemente las normas europeas EN16723-1 y EN16723-2, que recogen las especificaciones técnicas del biometano para su inyección en la red de distribución de gas natural y para su uso como biocombustible de vehículos, respectivamente. El cumplimiento obligatorio de esta normativa implica la necesidad de una monitorización on-line y en continuo de los parámetros químicos del biometano, lo que requiere, a su vez, de la instalación de sistemas de medida fiables.

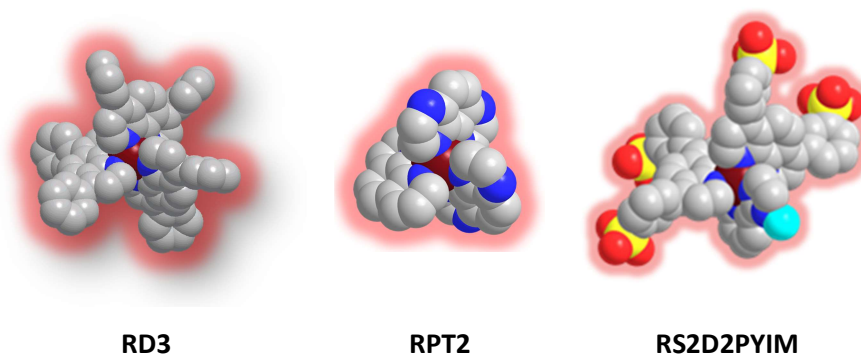
La instrumentación comercial actualmente disponible para la monitorización de  $\text{O}_2$ ,  $\text{NH}_3$  y  $\text{H}_2\text{S/RSH}$  (dispositivos electroquímicos, quimio-resistivos, ópticos o cromatografía de gases acoplada a un detector) presenta ciertas limitaciones para su aplicación en una planta de producción de biometano. La escasa sensibilidad y/o selectividad que caracterizan a algunos sistemas de medida, la demanda de un sistema específico de pre-acondicionamiento de muestra, de un mantenimiento frecuente y costoso, y/o de personal cualificado por parte de algunos dispositivos, el elevado coste o la imposibilidad de instalación *in situ*, son algunos de los inconvenientes que hacen a estos dispositivos de medida inapropiados para esta aplicación. Por



tanto, es indudable la necesidad de desarrollar nuevos sensores que permitan monitorizar los parámetros de calidad del biometano de forma eficaz y fiable.

El objetivo principal de esta tesis doctoral es el desarrollo y aplicación de tres sensores luminiscentes sensibles, en su mayoría selectivos, y fiables, para la monitorización *in situ* y en tiempo real de  $O_2$ ,  $H_2S/RSH$  y  $NH_3$  en biometano. Teniendo en cuenta los más de 30 años de experiencia del grupo GSOLFA en el desarrollo de sensores luminiscentes sobre fibra óptica para aplicaciones medioambientales, industriales y aeronáuticas, gracias a las excelentes prestaciones proporcionadas por estos sensores (sensibilidad, selectividad, posibilidad de monitorización a larga distancia, inmunidad a las interferencias eléctricas, cuantificación sin consumo de analito, calibración robusta y escaso mantenimiento), nos propusimos cumplir con los requisitos del usuario final (Naturgy Energy Group), una empresa líder en el sector del gas natural, en España (más de 5 millones de clientes) y en Latinoamérica, y la tercera más grande del mundo basado en el valor de mercado.

Estos sensores luminiscentes constan de una molécula indicadora (Figura 1) diseñada a medida, exclusivamente o principalmente sensible al analito de interés, inmovilizada en una matriz polimérica.



**Figura 1:** Estructuras químicas de los indicadores luminiscentes preparados para la monitorización de  $O_2$  (RD3),  $H_2S/RSH$  (RPT2) y  $NH_3$  (RS2D2PYIM).

Los complejos de Ru(II) con ligandos poliazaheteroaromáticos ocupan un lugar destacado en el desarrollo de sensores luminiscentes, gracias a su versatilidad y rica fotoquímica. Teniendo en cuenta la naturaleza del analito, se prepararon complejos de Ru(II) con propiedades fotoquímicas a medida, únicamente modificando los ligandos quelatantes coordinados al metal, de tal forma, que la emisión de la molécula indicadora preparada, únicamente se viese desactivada por la presencia del analito de interés ( $O_2$ ,  $H_2S/RSH$  o  $NH_3$ ). Los indicadores luminiscentes preparados se inmovilizaron en soportes inorgánicos tipo sílice, obteniendo las correspondientes membranas sensoras, todas ellas interrogadas por la misma instrumentación optoelectrónica, desarrollada en nuestro grupo de investigación.

En presencia del analito, la intensidad y tiempo de vida de emisión del indicador inmovilizado experimenta una desactivación (reversible), como resultado de la interacción fotoquímica (reacción de transferencia de energía, de transferencia de electrón o de transferencia de protón) entre ambos. La concentración de analito está directamente relacionada con la variación de la intensidad y tiempo de vida de emisión, por la ecuación de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q]$$

donde  $I_0$  ( $\tau_0$ ) and  $I$  ( $\tau$ ) son la intensidad (tiempo de vida) de emisión en ausencia y en presencia de analito,  $K_{SV}$  es la constante de Stern-Volmer,  $k_q$  es la constante de desactivación bimolecular y  $[Q]$  es la concentración de analito. Nuestros sensores utilizan, para su medida, el tiempo de vida de emisión, proporcionando medidas ópticas más estables y robustas que las medidas de intensidad de emisión. Existen varias formas de determinar el tiempo de vida de emisión de un luminóforo; nosotros hemos seleccionado la detección sensible a la fase dada su simplicidad y asequibilidad.

Los indicadores luminiscentes sintetizados se inmovilizaron en soportes silíceos (típicamente, microesferas de sílice) con el objetivo de aumentar la sensibilidad del sensor gracias a las propiedades adsorbentes de este material. Cada membrana sensora se colocó sobre una malla de nailon en el extremo distal de una fibra óptica bifurcada multimodo, a través de la cual viaja la luz de excitación (de un LED de 470 nm) al indicador inmovilizado y la luz de emisión al detector (PMT compacto Hamamatsu). En estas condiciones, el tiempo de vida de emisión del indicador desactivado y no desactivado oscila de 0.1 a 7  $\mu$ s. Estos tiempos de vida son interrogados con frecuencias de modulación de la fuente LED de 39, 78 o 156 KHz.

El primer artículo (Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 279, 458–465) describe el desarrollo de un sensor luminiscente de  $O_2$  y su aplicación en un planta de producción de biometano. La membrana sensora se preparó a partir de la inmovilización de un complejo de Ru(II) (Figura 1) con ligandos poliazaaromáticos de conjugación  $\pi$  extensa, de elevado tiempo de vida de emisión, en gel de sílice pirogénica. El funcionamiento del sensor está basado en la desactivación del estado excitado (triplete) del complejo de Ru(II) por el  $O_2$ , a través de un mecanismo de transferencia de energía. El sensor exhibió un intervalo muy amplio de medida de 3–10000 ppmv de  $O_2$ , una excelente sensibilidad y selectividad, con un límite de detección (LOD) de 1.0 ppmv, unos tiempos de respuesta y recuperación cortos ( $< 30$  s), buena repetibilidad y reproducibilidad, y una excelente estabilidad en las medidas de  $O_2$  llevadas a cabo en laboratorio. El efecto de la temperatura sobre la respuesta del sensor fue automáticamente corregido en el intervalo de 5–35  $^{\circ}C$ . El nuevo sensor luminiscente se instaló

en una planta de producción de biometano y su comportamiento fue evaluado a lo largo de más de seis meses. El sensor mostró una estabilidad limitada, requiriendo la sustitución de la membrana sensora cada 10 días. El empleo de membranas protectoras o de soportes poliméricos alternativos, permitió mejorar considerablemente la estabilidad a largo plazo de las membranas. Actualmente, seguimos trabajando en esta cuestión tratando de alargar el tiempo de vida operacional de las membranas sensoras. No obstante, el sensor representa una buena alternativa a la cromatografía de gases empleada actualmente para la monitorización de  $O_2$ .

El segundo artículo (Analytical Chemistry, 2019, 91, 2231–2238) desvela el desarrollo y aplicación del primer sensor luminiscente reversible de  $H_2S$  descrito hasta el momento en la bibliografía. La membrana sensora se fabricó a partir de la inmovilización de un complejo de Ru(II) fotooxidante (Figura 1) en microesferas de sílice pre-tratadas. En presencia de  $H_2S$ , la luminiscencia del complejo de Ru(II) se ve desactivada como resultado de la transferencia reversible de un electrón del analito al indicador fotoexcitado (mecanismo de transferencia de electrón). El sensor también responde a mercaptanos volátiles presentes en el biometano. El innovador sensor luminiscente de  $H_2S$  proporcionó un intervalo de medida de 0.34–50 ppmv (0.44–65 mg S m<sup>-3</sup>), una excelente sensibilidad, con un LOD de 0.025 ppmv, buena selectividad (no responde al  $O_2$  en sus niveles de concentración en biometano), unos tiempos de respuesta y recuperación inferiores a 240 s, una repetibilidad y reproducibilidad mejores que el 3.2%. El efecto de la temperatura sobre la respuesta del sensor fue automáticamente corregido en el intervalo de 10–35 °C. El sensor demostró notablemente su aplicabilidad a la monitorización de  $H_2S$  en una planta de producción de biometano, exhibiendo una excelente estabilidad y un tiempo de vida operacional de más de seis meses, gracias a la instalación de un sistema de limpieza automático. Los resultados obtenidos hacen del nuevo sensor luminiscente de  $H_2S$  una excelente alternativa a los dispositivos de medida existentes.

El tercer artículo (Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 292, 210–216) detalla la fabricación y aplicación de un sensor luminiscente reversible de  $NH_3$ . La membrana sensora se preparó a partir de la inmovilización de un complejo de Ru(II) con un ligando heterocíclico con propiedades ácidas (piridilimidazol, Figura 1), en microesferas de sílice pre-tratadas. El mecanismo de medida es una transferencia reversible de protón del complejo de Ru(II) al  $NH_3$  de carácter básico, con la consiguiente desactivación de la intensidad y tiempo de vida de luminiscencia. Las medidas de desfase de luminiscencia con el equipo optoelectrónico desarrollado resultaron en un intervalo de medida de 0.5–20 ppmv (0.013–11 mg m<sup>-3</sup>) de  $NH_3$ , un LOD de 0.15 ppmv, buena repetibilidad y reproducibilidad (< 4.8%), y tiempos de respuesta y recuperación inferiores a 4 y 13 min, respectivamente. La interferencia del  $O_2$  se resolvió a través de la corrección *in situ* y en tiempo real de las medidas del sensor de  $NH_3$ , de los valores de concentración instantáneos de  $O_2$  monitorizados por el sensor luminiscente de  $O_2$ ,

desarrollado para el mismo proyecto. Se evaluó el funcionamiento del sensor en una planta de producción de biometano durante cuatro meses. La membrana sensora de  $\text{NH}_3$  mostró un excelente funcionamiento durante un periodo de 10 días. En periodos más largos de operación se observó una pérdida progresiva de sensibilidad de la membrana, que obligó a la sustitución de la misma. El sensor de  $\text{NH}_3$  desarrollado puede considerarse una alternativa competitiva a otros dispositivos de medida, siempre y cuando se consiga mejorar el tiempo de vida operacional de la membrana sensora.

El último artículo (en preparación) se centra en el desarrollo de un sensor luminiscente de  $\text{O}_2$  de elevada sensibilidad, basado en un complejo de  $\text{Ru(II)}$  de elevado tiempo de vida de emisión (hasta cientos de  $\mu\text{s}$ ). Para este propósito, se prepararon dos complejos de  $\text{Ru(II)}$  con grupos pireno unidos covalentemente a los ligandos quelatantes 2,2'-bipiridina o 1,10-fenantrolina (RPPR3 y RBSPR3). El largo tiempo de vida del estado excitado triplete del pireno provoca un aumento del tiempo de vida de emisión del complejo de  $\text{Ru(II)}$  (desde pocos  $\mu\text{s}$  hasta cientos de  $\mu\text{s}$ ), como resultado del equilibrio que se establece entre los estados excitados triplete del complejo de  $\text{Ru(II)}$  y del pireno, de similar energía. El estudio espectroscópico y fotofísico de los indicadores reveló, en el caso del complejo RPPR3, donde el grupo pireno estaba unido al ligando 1,10-fenantrolina por un enlace sencillo C–C, un elevado tiempo de vida del estado excitado (150  $\mu\text{s}$ ). Por el contrario, no se obtuvo el mismo resultado en el caso del complejo RBSPR3, donde el grupo pireno estaba unido al ligando 2,2'-bipiridina a través de un enlace covalente doble (C=C). Aparentemente, la naturaleza del enlace covalente que conecta ambos cromóforos afecta considerablemente al establecimiento del equilibrio entre los estados excitados tripletes, y por tanto, a la prolongación del tiempo de vida de emisión del complejo de  $\text{Ru(II)}$ . La elevada sensibilidad al  $\text{O}_2$  mostrada por el indicador RPPR3 en disolución, se redujo drásticamente cuando el indicador se inmovilizó en distintos soportes sólidos. Probablemente, la inadecuada orientación relativa de los dos cromóforos en el soporte sólido impide o dificulta el equilibrio energético entre ambos estados electrónicos excitados tripletes. Es necesario, por tanto, evaluar nuevos soportes sólidos para conseguir los excelentes resultados de sensibilidad al  $\text{O}_2$  logrados con el indicador RPPR3 en disolución.

Para concluir, los nuevos sensores luminiscentes pueden ser una opción competitiva para la monitorización *in situ*, en continuo y en tiempo real del  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}/\text{RSH}$  y  $\text{NH}_3$  en biometano. La elevada sensibilidad, los tiempos de respuesta y recuperación relativamente cortos, junto con la robustez y el escaso mantenimiento de estos sensores, hacen de ellos una tecnología prometedora comparando con los dispositivos de medida existentes. Además, éstos han demostrado un buen funcionamiento en la planta de producción de biometano. Con respecto a la selectividad del sensor de  $\text{NH}_3$ , la interferencia del  $\text{O}_2$  por encima de las 10 ppmv se corrige rápidamente empleando las medidas instantáneas del sensor luminiscente de  $\text{O}_2$ .



# Summary

---



## Photochemical fiber-optic luminescent sensors for *in situ* monitoring of quality parameters in biomethane

Biomethane is a sustainable biofuel composed mainly of methane, which can be used as a vehicle fuel or injected into the natural gas distribution lines. Among the renewable energy sources, this gas is becoming increasingly interesting due to its environmental, economic and social benefits. However, for the moment, this energy source has some limitations. It requires technological advancements in the production process to obtain a high quality biomethane from urban or agro-industrial waste, ensuring the energy quality, the consumers' safety and the infrastructures protection.

The most common biomethane production process (biological pathway) consists of two major steps: anaerobic fermentation of organic feedstock to produce the so-called biogas, and a subsequent upgrading process in which biogas is cleaned of particles, water, CO<sub>2</sub>, and other minor components (H<sub>2</sub>S/RSH, O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>). Although biomethane is composed mainly of methane (> 96%), it can also contain small amounts of other gases such as those mentioned above.

The presence of those impurities may provoke infra-structural, safety or environmental problems, e.g. corrosion of equipment and fittings, gas explosions and emission of contaminants into the atmosphere as a result of the biomethane combustion.

In order to prevent the latter, the European Organization for Standardization has recently released the European Norms EN 16723-1 and EN 16723-2 that establish the biomethane specifications for its injection into the natural gas distribution grid and its use as a vehicle fuel, respectively. Since then, on-line analysis of biomethane has become mandatory and, consequently, reliable monitoring must be installed in biomethane production plants, ensuring that the gas meets the legal limits.

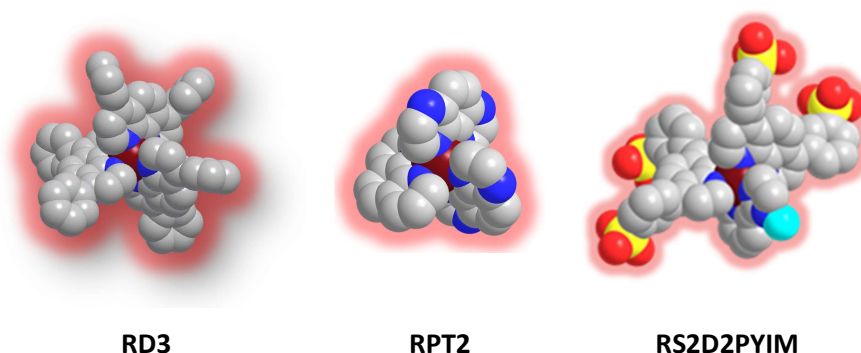
Although several commercial sensing technologies (electrochemical, chemoresistive, gas chromatography coupled to a detector, optical) are currently available for O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>S/RSH quantification, the need of developing new sensors is unquestionable as each of the current sensors shows its own set of issues when deployed in an actual biomethane production plant. Some of them are poorly selective or sensitive for the sought application, demand frequent and/or time-consuming maintenance, require a gas sample pre-conditioning system, are costly and need qualified personnel, or simply cannot operate in the environment of a biomethane production plant.

The aim of this work was the development and application of three sensitive, mostly selective and reliable luminescent sensors for *in situ*, real-time, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S/RSH and NH<sub>3</sub> gas



monitoring in biomethane. Taking into account our 30+ years' experience in the development of fiber-optic luminescent sensors for environmental, industrial and aeronautical applications due to its superior features (sensitivity, selectivity, long distance monitoring capability, immunity to electrical interference and risks, lack of analyte consumption, robust calibration and scarce maintenance), we set out to fulfill the requirements of the end-user (Naturgy Energy Group), the leader natural gas utility in Spain (more than 5 million customers) and Latin America, and the third world's largest one based on market value.

These luminescent sensors consist each of a tailored indicator dye (Figure 1), exclusively or mostly sensitive to the target analyte, immobilized onto a siliceous support behind a thin metal or PTFE mesh to keep the dyed particles tightly packed.



**Figure 1:** Chemical structures of the luminescent indicator dyes prepared for  $O_2$  (RD3),  $H_2S/RSH$  (RPT2) and  $NH_3$  (RS2D2PYIM) sensing.

Luminescent ruthenium(II) complexes with polyazaheteroaromatic ligands were used as indicators dyes due to their versatility and rich photochemistry. Taking into account the nature of the analytes, we prepared Ru(II) complexes with tailored photochemical properties through a judicious selection of the chelating ligands, so that the emission of each indicator molecule would be quenched by the target analyte ( $O_2$ ,  $H_2S/RSH$  or  $NH_3$ ). The dyes were immobilized onto silica beads to yield the resulting sensing layers, which were all interrogated by the same dedicated field-deployable fiberoptic phase-sensitive luminometer, developed in our research group.

In the presence of the analyte, the luminescence intensity and lifetime of the immobilized photoexcited indicator dye is (reversibly) quenched by the target analyte as a result of the photochemical reaction (energy transfer, electron transfer or proton transfer reaction) with the tailored Ru(II) complex. The concentration of the analyte is directly related to the change in the emission intensity and lifetime, by the so-called Stern-Volmer equation:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q]$$

where  $I_0$  ( $\tau_0$ ) and  $I$  ( $\tau$ ) are the luminescence intensities (lifetime) in the absence and in the presence of the analyte,  $k_q$  is the bimolecular quenching constant, and  $[Q]$  the analyte concentration. Due to the superior stability and lack of influence of the indicator photodegradation of the luminescence lifetime, our sensors are based on the latter parameter. There are several ways to determine the emission lifetime of a luminophore; we have chosen the phase-sensitive detection due to the higher simplicity and affordability.

The synthesized indicator dyes were immobilized onto a siliceous support (typically, silica microbeads) in order to increase the sensor sensitivity thanks to the well-known gas physisorption properties of this material. Each sensitive layer was placed behind a nylon mesh at the distal end of a multimode bifurcated industrial optical fiber to carry the excitation light (from a 470-nm LED) to the supported indicator dye and its luminescence back to the detector (Hamamatsu compact PMT). Under these conditions, the unquenched and quenched luminescence lifetimes of the luminophore span from ca. 0.1 to 7  $\mu$ s. These lifetimes are conveniently interrogated with modulation frequencies of the LED source of 39, 78 or 156 KHz.

The first paper (Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 279, 458–465) describes the development of the luminescent O<sub>2</sub> sensor and its application in a real biomethane production plant. The O<sub>2</sub> sensing layer consisted of a long-lived luminescent Ru(II) complex (Figure 1) bearing extended  $\pi$ -conjugation in its polyazaheteroaromatic chelating ligands, immobilized on silica gel particles. The sensing photochemistry relies on the luminescence quenching of the (triplet) excited Ru(II) complex by O<sub>2</sub> through an energy transfer mechanism. The sensor exhibited an impressive 3–10000 ppmv (0.0003–1 mol%) O<sub>2</sub> range, excellent sensitivity and selectivity with a limit of detection (LOD) of 1.0 ppmv, short response and recovery times (< 30 s), good repeatability and reproducibility values, and excellent stability under the laboratory conditions. The effect of temperature on the sensor response was automatically corrected by measuring the sensor response in the 5–35 °C range. The O<sub>2</sub> sensor was installed at a biomethane production plant and its performance was verified for more than six months. Nevertheless, unlike the laboratory validation tests, the sensor showed limited stability when operating in the biomethane production plant, requiring an exchange of the sensitive tip ca. every 10 days. The use of protective membranes or alternative polymer supports improved considerably the stability of the sensor, increasing the operational lifetime. We are currently working on this issue in order to extend the operational lifetime of the sensing layers. Nevertheless, it represents a solid alternative to current field gas chromatographs used for O<sub>2</sub> monitoring.

The second paper (Analytical Chemistry, 2019, 91, 2231–2238) reports the development and application of the luminescent H<sub>2</sub>S sensor. This is the first reversible luminescent H<sub>2</sub>S/RSH sensor described so far in the literature. The sensing layer is based on a highly photooxidizing phosphorescent ruthenium(II) complex (Figure 1) immobilized on alkali pre-treated silica microspheres. The novel optode was interrogated by the same portable instrument employed for the O<sub>2</sub> sensing, specifically designed for *in situ* biomethane monitoring. In the presence of H<sub>2</sub>S, the luminescence of the Ru(II) complex is quenched due to a reversible electron transfer from the analyte to the photoexcited dye. The sensor also responds to volatile mercaptans present in the biomethane. The luminescent H<sub>2</sub>S sensor displays a 0.34–50 ppmv (0.44–65 mg S m<sup>-3</sup>) measuring range and good selectivity (no response to O<sub>2</sub> within the concentrations typically found in biomethane, see above), with a LOD of 0.025 ppmv, relatively short response and recovery times (< 240 s), and repeatability and reproducibility better than 3.2%. The effect of temperature on the sensor response was automatically corrected by measuring the sensor response in the 10–35 °C range. The luminescent H<sub>2</sub>S sensor demonstrated an excellent performance in the biomethane production plant, showing excellent stability and an operational lifetime of over six months, thanks to the automatic cleaning system installed. Our results make the novel H<sub>2</sub>S luminescent sensor a superior alternative to existing monitoring technologies such as the lead acetate tape monitor.

In the third paper (Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 292, 210–216), the fabrication and application of the reversible NH<sub>3</sub> luminescent sensor is detailed. The novel reversible NH<sub>3</sub> optode capitalizes on a Ru(II) complex containing an acidic heterocyclic ligand (pyridylimidazole, Figure 1), immobilized on acid pre-treated silica microspheres. The sensing mechanism is a reversible proton transfer from the Ru(II) complex to the basic analyte, leading to the observed indicator dye luminescence intensity and lifetime quenching. The emission phase-shift measurements with the developed optoelectronic unit led to a 0.5–20 ppmv (0.013–11 mg m<sup>-3</sup>) NH<sub>3</sub> measuring range. Moreover, a LOD of 0.15 ppmv, repeatability and reproducibility better than 4.8%, and response and recovery times less 4 and 13 min, respectively, characterize the sensor performance. The O<sub>2</sub> interference was solved by *in situ* real time correction of the NH<sub>3</sub> sensor measurements for the instant readings provided by the luminescent O<sub>2</sub> sensor. The ammonia optosensor was tested for more than four months in the biomethane production plant, showing excellent performance over a 10-day span. For longer operation periods the NH<sub>3</sub>-sensitive film showed a progressive loss of sensitivity that required change of the sensing layer. The developed NH<sub>3</sub> optosensor may be a competitive sensing technology according to its analytical characteristics and good performance in the biomethane production plant. Nevertheless, further work must be carried out to increase the operational lifetime of the tips.

The last paper (in preparation) focuses on developing a highly sensitive O<sub>2</sub> luminescent sensor, based on a Ru(II) complex with long-lived excited states (up to hundreds of  $\mu$ s). For that purpose, we synthesized two Ru(II) complexes with a pyrene moiety covalently attached to the 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline chelating ligands (RPPR3 and RBSPR3). The presence of a second chromophore, with an extended triplet excited-state lifetime, in the coordination sphere of the Ru(II) complex, lead to the prolongation of the luminescence lifetime of the complex (from a few  $\mu$ s up to hundreds of  $\mu$ s), due to an equilibrium established between the triplet excited states of the Ru(II) polypyridyl and pyrene chromophores. The spectroscopic and photophysical studies of the indicator dyes revealed, in the case of RPPR3 complex, where the pyrene group was appended to the phenanthroline chelating ligand through a single C–C single bond, a long-lived excited-state ( $\sim 150$   $\mu$ s). Conversely, that was not the case of the other Ru(II) complex (RBSPR3), where the pyrene moiety was attached to the bipyridine chelating ligand via a double C=C bond. Apparently, the nature of the covalent bridge connecting both units affects considerably the equilibrium between the two triplet excited states and, therefore, the lifetime extension phenomena. The RPPR3 indicator dye exhibited an ultra-high sensitivity to O<sub>2</sub>, when dissolved in acetonitrile. However, this extraordinary sensitivity was vanished once the RPPR3 indicator dye was immobilized in a solid support, probably due to the bad relative orientation of the two chromophores that impedes the energetic equilibrium between the two triplet excited states. New solid supports must be tested to achieve a good O<sub>2</sub> sensitivity as in solution.

To conclude, the new lifetime-based luminescent sensors can be a competitive option for *in situ* continuous real-time O<sub>2</sub>/ H<sub>2</sub>S/RSH and NH<sub>3</sub> monitoring. The sensors high sensitivity and relatively short response and recovery times, along with its ruggedness and low maintenance, make them a promising technology compared to existing devices. They have demonstrated great performance when installed at a biomethane production line. When it comes to the sensor selectivity, O<sub>2</sub> interference above 10 ppmv is readily solved by correction using the instant readings from the luminescent sensor.



# Introducción

---



## 1. Biogás-biometano

El biogás es una fuente de energía sostenible que se obtiene a partir de la degradación anaerobia de la materia orgánica. Este gas está compuesto fundamentalmente de metano (50–75 %) y dióxido de carbono (25–50 %), además de otros componentes minoritarios como vapor de agua (2–7 %), nitrógeno (< 2 %), oxígeno (< 2 %), amoníaco, sulfuro de hidrógeno, siloxanos, etc.<sup>1</sup> Tras un proceso de secado y desulfuración, el biogás puede emplearse directamente para la producción de calor y electricidad o puede ser previamente revalorizado en una etapa denominada “*upgrading*”, generando el llamado biometano. Este gas, de composición muy similar al gas natural, puede ser inyectado en la red de distribución de gas natural, aprovechando las infraestructuras de transporte y almacenamiento ya existentes, o utilizarse como biocombustible para vehículos (en lugar del gas natural comprimido o GNC).

El biogás ha adquirido gran interés en los últimos años debido a sus múltiples ventajas.<sup>2-3</sup> Desde el punto de vista económico, como resultado del proceso de fermentación de la materia orgánica, se generan dos productos con un potencial alto valor añadido: el biogás, un gas empleado para generar energía en forma de calor, electricidad o combustible, y el digestato, un residuo semi-líquido rico en materia orgánica y minerales (nitrógeno, fósforo, potasio) que, previo tratamiento, resulta apto para su uso como fertilizante.<sup>4</sup> Desde el punto de vista medioambiental, la producción de biogás en digestores anaerobios reduce la liberación de gases de efecto invernadero. Por un lado, sustituye el uso de combustibles fósiles que liberan CO<sub>2</sub>, cuyo origen se remonta a millones de años atrás (ciclo largo del carbono), a diferencia del CO<sub>2</sub> liberado durante la combustión del biogás/biometano, que procede del carbono capturado de la atmósfera en el mismo ciclo (ciclo corto del carbono). Por otro lado, evita la emisión de metano (CH<sub>4</sub>) que tiene lugar durante la descomposición natural de la materia orgánica, reduciendo el efecto invernadero, al ser el CH<sub>4</sub> un gas de efecto invernadero 23 veces más potente que el CO<sub>2</sub>. Además, el uso de digestores anaerobios reduce el uso directo del estiércol como fertilizante, disminuyendo la posible contaminación de aguas, suelos y aire y eliminando agentes patógenos que pueden suponer un riesgo para la salud.

Los principales productores de biogás son la Unión Europea y los Estados Unidos aunque, cada vez más, otras regiones como China, Brasil o Japón se están sumando a la producción de este biocombustible. La Unión Europea se posiciona como líder tanto en la producción mundial de biogás, suponiendo el 50 % del biogás generado globalmente, como en la producción de biometano, que está adquiriendo cada vez más protagonismo dadas sus atractivas aplicaciones.<sup>5</sup> Esto se debe al impulso que han supuesto las políticas energéticas y climáticas de la Unión Europea, dirigidas a la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero y a la promoción de las energías renovables.<sup>6-8</sup> Sin embargo, a pesar de ser una energía sostenible con mucho



potencial, a día de hoy no puede competir económicamente con los combustibles fósiles. Por ello su futuro depende de programas de apoyo gubernamentales, además de una considerable inversión económica para lograr avances tecnológicos tanto en el proceso biológico de producción de biogás, como en el proceso de “*upgrading*” para la obtención del biometano, que permitan aumentar el rendimiento y la eficacia de ambos procesos, reduciendo costes.<sup>9</sup>

## 1.1. Producción de biogás

Actualmente existen dos vías para la obtención del biogás: la vía bioquímica, basada en la digestión anaerobia de la materia orgánica, y la vía termoquímica, que consiste en la gasificación de la biomasa, denominándose el gas así obtenido *bio-syngas* (Bio-SNG).<sup>10</sup>

### 1.1.1. Producción bioquímica

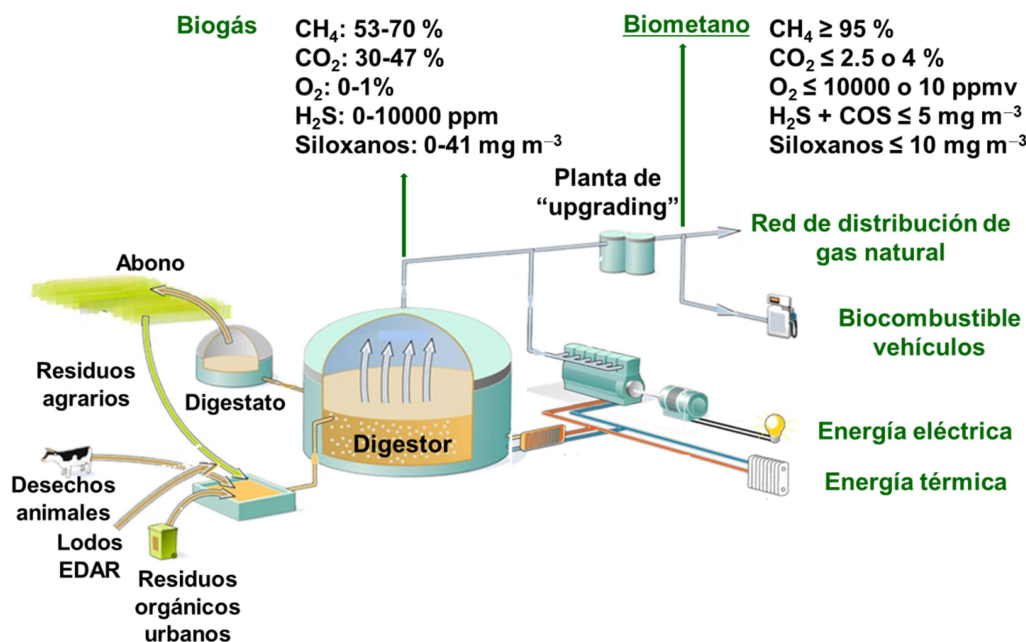
La digestión anaerobia es un proceso en el cual la materia orgánica se transforma principalmente en metano, dióxido de carbono y agua, por acción de bacterias. Puede tener lugar en digestores anaerobios o en vertederos, donde el biogás generado es extraído a través de pozos de captación.

La biomasa empleada en la producción bioquímica de biogás se puede clasificar en cuatro categorías: (i) la materia orgánica procedente de la actividad agraria y ganadera (estiércol, desechos de alimentos y residuos de las cosechas); (ii) los desechos orgánicos procedentes tanto de los hogares como de los municipios (fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (RSU) y desechos y alimentos caducados procedentes de mercados); (iii) los residuos generados por la actividad industrial agroalimentaria (subproductos del procesado de alimentos) y (iv) los fangos generados en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR).<sup>11</sup>

Tanto el tipo de materia prima empleada, como el sistema de digestión, influyen notablemente en la composición del biogás producido, especialmente en su contenido de CH<sub>4</sub>. Así, el biogás obtenido de la descomposición de los fangos de la EDAR contiene un 65–75 % de CH<sub>4</sub> y un 20–35 % de CO<sub>2</sub>, mientras que el biogás producido a partir del estiércol de origen animal está compuesto por un 50–77 % de CH<sub>4</sub> y un 30–50 % de CO<sub>2</sub>. El biogás extraído de vertederos suele contener niveles inferiores de CH<sub>4</sub> (45–55 %) que el obtenido en digestores anaerobios y, por tanto, mayor contenido en CO<sub>2</sub> (35–55 %).<sup>12</sup>

El biogás generado en los vertederos y en los digestores se suele utilizar de forma directa en la producción de calor y electricidad. Su empleo como biocombustible de vehículos o para inyección en red requiere de una etapa previa de purificación y revalorización del biogás, en la

que se obtiene el denominado biometano (ver apartado 1.3). La Figura 1 muestra un esquema de la producción, revalorización y aplicaciones del biogás.



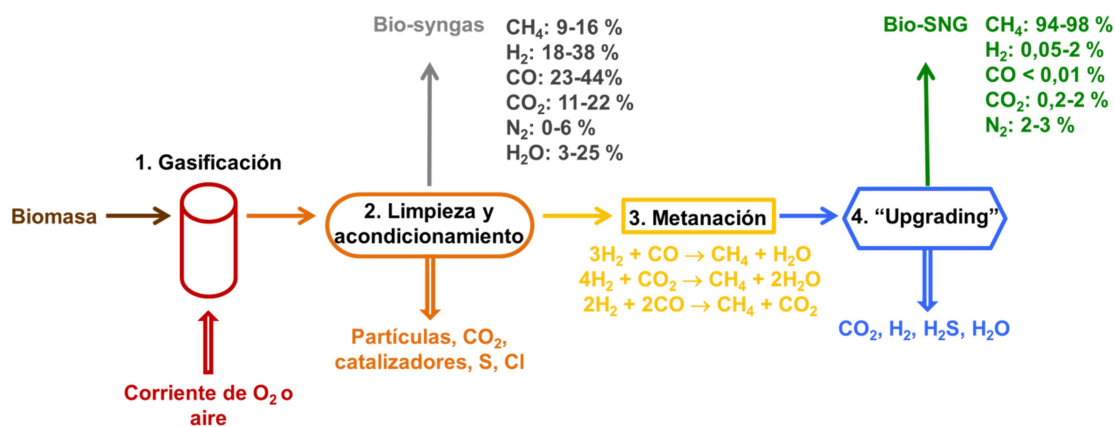
**Figura 1.** Esquema del proceso de producción del biogás, del proceso de "upgrading" para la obtención de biometano y las aplicaciones de éstos.<sup>13</sup>

### 1.1.2. Producción termoquímica

La gasificación de la biomasa consiste en la conversión termoquímica de la materia orgánica en un gas denominado *bio-syngas*. Se trata de una oxidación parcial de la materia orgánica en presencia de una corriente de aire u oxígeno a alta temperatura (> 700 °C). La biomasa empleada en el proceso de gasificación incluye cultivos energéticos (caña, girasol, maíz, trigo), residuos de la agricultura (viñedos, árboles frutales, paja), desechos animales (estiércol), residuos industriales (madera, serrín, residuos vegetales de la industria papelera) o residuos municipales (restos de jardines y parques, fracción orgánica de los RSU, fangos de la EDAR).<sup>14</sup>

El *bio-syngas* obtenido está compuesto fundamentalmente por hidrógeno (H<sub>2</sub>) y monóxido de carbono (CO), además de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y un bajo contenido en metano (CH<sub>4</sub>, 10 –15 %) y otros componentes minoritarios como etano, propano, nitrógeno (N<sub>2</sub>), sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) o ácido clorhídrico (HCl). Tras un proceso de limpieza y acondicionamiento del gas (eliminación de partículas, azufre y cloro, y ajuste de la relación molar H<sub>2</sub>/CO), se lleva a cabo un proceso de metanación en el que tiene lugar la reacción del CO y el H<sub>2</sub> produciendo CH<sub>4</sub> e incrementando notablemente el poder calorífico del gas combustible obtenido. Finalmente, mediante un proceso de "upgrading", en el que se reduce el contenido de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S

y H<sub>2</sub>O, se obtiene un gas de composición similar al gas natural (Bio-SNG) con un contenido en CH<sub>4</sub> superior al 95 %.<sup>15-16</sup> La Figura 2 muestra un esquema de la producción del *bio-syngas* y el Bio-SNG.



**Figura 2.** Esquema del proceso de producción del Bio-SNG.

La producción termoquímica del biogás sintético es un procedimiento muy poco empleado en comparación con la digestión anaerobia. Sin embargo, esta tecnología despierta interés al ofrecer la posibilidad de producir biometano a gran escala.

## 1.2. Obtención del biometano (“upgrading”)

El biogás obtenido por digestión anaerobia de la materia orgánica está compuesto fundamentalmente por CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, además de otros componentes minoritarios (ver Tabla 1). El componente que hace al biogás un biocombustible es el CH<sub>4</sub>, un gas con un alto poder calorífico. El resto de componentes se consideran impurezas y su presencia en el biogás supone un riesgo para la salud humana, para la integridad de las redes de distribución de gases o para el funcionamiento de motores, compresores o equipos domésticos.

El N<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub> “diluyen” el CH<sub>4</sub> del biogás, reduciendo el poder calorífico del biocombustible y modificando las propiedades de combustión del biogás. El O<sub>2</sub>, a ciertos niveles supone un riesgo de explosión e incendio. El H<sub>2</sub>S o NH<sub>3</sub> son tóxicos, suponiendo un peligro para la salud de los consumidores y trabajadores en caso de fuga del gas, y son corrosivos, dañando compresores, tanques de almacenamiento, tuberías o motores. Además, una vez liberados a la atmósfera o en el proceso de combustión del biometano, se transforman en óxidos de S y de N, originando un daño medioambiental. Por último, los siloxanos afectan al proceso de combustión, pues se transforman en óxidos de silicio que se depositan en válvulas y motores de combustión, dañándolos.

**Tabla 1.** Composición indicativa del biogás obtenido bioquímicamente en vertederos y en digestores anaerobios y del *bio-syngas* obtenido termoquímicamente con una corriente de O<sub>2</sub> o de aire.<sup>17</sup>

		Biogás		Bio-syngas	
		Digestor anaerobio	Gas de vertedero	Corriente de O <sub>2</sub>	Corriente de aire
CH <sub>4</sub>	(% mol)	50–80	30–60	15.6	1–10
CO <sub>2</sub>	(% mol)	15–50	40	15–30	7–15
H <sub>2</sub>	(% mol)	0–2	0–2	20–30	10–15
N <sub>2</sub>	(% mol)	0–5	15–40	3–7	~ 50
O <sub>2</sub>	(% mol)	0–1	0–10	-	-
H <sub>2</sub> S	(mg m <sup>-3</sup> )	100–10000	0–1000	-	-
NH <sub>3</sub>	(mg m <sup>-3</sup> )	0–100	0–5	-	-
BTX	(mg m <sup>-3</sup> )	0–100	0–800	-	-
Siloxanos	(mg m <sup>-3</sup> )	0–50	0–50	-	-

El “*upgrading*” o valorización es un proceso de limpieza del biogás, en el que se eliminan partículas, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y N<sub>2</sub>, además de otros componentes minoritarios como el H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, O<sub>2</sub> o siloxanos. El gas resultante, denominado biometano, es un gas concentrado en CH<sub>4</sub> (> 95 %) con cantidades limitadas de impurezas, cuya composición está determinada por su aplicación final. El empleo del biogás para la generación de calor y electricidad requiere un proceso de limpieza mucho más sencillo, mientras que para la inyección del biogás en la red de distribución de gas natural o para su empleo como biocombustible es necesario un proceso de eliminación de impurezas mucho más exhaustivo, pues los límites máximos de concentración de las impurezas son más estrictos.<sup>18</sup>

Este proceso de limpieza es clave de cara a la aplicación del biometano, pues su composición está regulada legalmente (ver apartado 1.3). La tecnología empleada en la etapa de valorización va a depender de las impurezas presentes en el biogás y, éstas a su vez, dependen de la biomasa empleada en su obtención y del proceso de digestión llevado a cabo. Por tanto, lejos de parecer un proceso sencillo, cada planta de biogás aplicará sus correspondientes etapas de limpieza, pues no habrá dos digestores idénticos, ni dos condiciones de digestión equivalentes.

Aunque existen numerosas tecnologías físicas, químicas y biológicas de “*upgrading*”, la mayoría no son apropiadas desde el punto de vista económico y medioambiental pues conllevan un alto consumo energético y empleo de sustancias químicas. Por ello, se requieren avances tecnológicos en esta etapa de valorización, para que esta energía sostenible llegue a ser competente desde el punto de vista económico y medioambiental. A continuación, se recogen las tecnologías más ampliamente empleadas en este proceso.<sup>18,19-20</sup>

### 1.2.1. Eliminación de partículas

Las partículas presentes en el biometano se separan mediante filtros mecánicos.

### 1.2.2. Eliminación del CO<sub>2</sub>

La extracción del CO<sub>2</sub> puede llevarse a cabo por absorción, adsorción o eliminación biológica.

El proceso de absorción consiste en el lavado del biogás con una fase líquida que puede ser agua, un disolvente orgánico como el poli(etilenglicol) o un reactivo químico como la monoetanolamina (MEA) o la dimetiletanolamina (DMEA). Gracias a la diferente solubilidad de los gases, el CO<sub>2</sub> queda disuelto en la fase líquida, mientras que el CH<sub>4</sub> permanece en la fase gas. La fase líquida se regenera por desorción con una corriente de aire, calentamiento o despresurización, y se puede reutilizar.

La adsorción selectiva del CO<sub>2</sub> tiene lugar en un adsorbente poroso con alta superficie específica, a alta presión (“*Pressure Swing Adsorption*” (PSA)). El material adsorbente (carbón activo, zeolitas o gel de sílice), una vez saturado, se regenera por despresurización. Se recomienda eliminar previamente el H<sub>2</sub>O y el H<sub>2</sub>S, ya que el primero destruye la estructura del material y el segundo queda irreversiblemente adsorbido.

Por último, la eliminación biológica consiste en la conversión biológica del CO<sub>2</sub> en metano, en reactores biológicos o digestores anaerobios, según la siguiente reacción:



El proceso de conversión requiere la inyección de H<sub>2</sub>, un gas altamente inflamable y poco soluble en agua. Es un método más innovador que los anteriores y solo se han realizado pruebas a nivel de laboratorio.

### 1.2.3. Eliminación del H<sub>2</sub>O

El vapor de agua se puede eliminar por adsorción en columnas presurizadas, empaquetadas con gel de sílice, alúmina, carbón activo o tamices moleculares, por absorción en sales higroscópicas o glicoles, o por refrigeración a presión atmosférica y posterior separación del agua condensada.

#### 1.2.4. Eliminación del $H_2S$

La desulfuración del biogás puede llevarse a cabo por precipitación, adsorción, absorción o por eliminación biológica.

La precipitación del azufre como  $FeS$  tiene lugar en presencia de sales de hierro como el  $FeCl_2$ ,  $FeCl_3$ ,  $FeSO_4$ . Proporciona un biogás con niveles de  $H_2S$  en torno a 100–150 ppmv.\*

El  $H_2S$  puede ser adsorbido en filtros recubiertos de óxidos de hierro ( $Fe_2O_3$  o  $Fe(OH)_3$ ), por formación de sulfuro de hierro(III), o en superficies de carbón activo, mediante la oxidación del  $H_2S$  a azufre elemental en presencia de agua, con  $O_2$  o en ausencia de  $O_2$ , si el carbón activo está impregnado con  $KI$  o  $KMnO_4$ . En ambos casos se obtiene una eficaz desulfuración del biogás con niveles de  $H_2S$  inferiores a 1 ppmv.

El  $H_2S$  también puede ser absorbido en agua, poli(etilenglicol) o disoluciones de hierro quelado ( $Fe^{3+}/EDTA$ ), siendo ésta última fase líquida muy efectiva, logrando niveles de  $H_2S$  de 1 a 10 ppmv.

Las tecnologías biológicas de desulfuración del biogás se basan en la oxidación del  $H_2S$  a azufre elemental por microorganismos como el *Thiobacillus* o el *Sulfolobus*. Tiene lugar en filtros biológicos en presencia de  $O_2$ . Aparentemente son métodos más baratos y eficaces que los fisicoquímicos, llegando a eliminar el 99 % del  $H_2S$  en pocos minutos (2–16).

#### 1.2.5. Eliminación del $O_2$ y del $N_2$

El  $O_2$  y  $N_2$  se eliminan por adsorción selectiva en un adsorbente poroso con alta superficie específica (carbón activo o tamices moleculares), o con membranas en función de su permeabilidad a los distintos gases.

#### 1.2.6. Eliminación del siloxanos

Los siloxanos son compuestos constituidos por enlaces silicio-oxígeno ( $Si-O$ ) que se eliminan por adsorción en un material adsorbente (carbón activo, gel de sílice, alúmina activa o zeolitas), o por absorción en disolventes orgánicos como el tetradecano.

---

\* Una forma habitual de expresar concentraciones pequeñas de un gas es en partes por millón volumétricas, siendo  $ppmv = (\text{volumen gas}/\text{volumen gas total}) \times 10^6$ . Así, un 1 % de  $O_2$  corresponde a 10000 ppmv de  $O_2$ .

### 1.2.7. “Upgrading” criogénico

El “upgrading” criogénico permite la eliminación de las impurezas ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , siloxanos) del biogás en función del punto de ebullición/sublimación de los diferentes gases. Se trata de llevar a cabo un enfriamiento progresivo del biogás comprimido en varias etapas e ir extrayendo las diferentes impurezas, en función de su punto de ebullición. El  $\text{CH}_4$  presenta un punto de ebullición muy inferior al resto de gases:  $-161,5\text{ }^\circ\text{C}$  frente a los puntos de ebullición del  $\text{CO}_2$  ( $-57\text{ }^\circ\text{C}$ ) y del  $\text{H}_2\text{S}$  ( $-60\text{ }^\circ\text{C}$ ), respectivamente.

## 1.3. Normativa

Con el objetivo de asegurar la seguridad, integridad y funcionamiento de las redes de gas, la calidad del biometano debe cumplir unos requisitos mínimos, establecidos por normativas elaboradas por las autoridades competentes. En un principio, cada país disponía de una legislación nacional con los parámetros de calidad que el biometano debía cumplir para su inyección en red o su empleo como combustible de vehículos. La Tabla 2 recoge las especificaciones técnicas definidas por algunos países de la Unión Europea (UE) antes de la armonización.

**Tabla 2.** Especificaciones técnicas definidas por distintos países de la Unión Europea para el uso del biometano como combustible para vehículos o para su inyección en la red de distribución de gas natural.<sup>18</sup>

	Alemania	Francia	República Checa	Austria	Suecia	España
$\text{CH}_4$ (%)	-	-	>95	>96	95–99	>95
$\text{CO}_2$ (%)	<6	<2.5	<5	<2	<3	2.5
$\text{O}_2$ (%)	<3	<0.01	<0.5	<0.5	<1	0.01
$\text{H}_2\text{S}$ ( $\text{mg m}^{-3}$ )	<5	<5	<7	<5	<15.2	15
Azufre total ( $\text{mg m}^{-3}$ )	<30	<30	<30	<10	-	50
Mercaptanos ( $\text{mg m}^{-3}$ )	<6	<6	<5	<6	-	17
$\text{NH}_3$ ( $\text{mg m}^{-3}$ )	<20	<3	-	0	-	3

Volúmenes indicados en condiciones normales:  $0\text{ }^\circ\text{C}$  y 1.01325 bar.

Como se observa en la Tabla 2, las normas de calidad nacionales diferían considerablemente entre ellas. Con el fin de armonizar los parámetros de calidad del biometano se propuso elaborar una normativa común europea. Tras un mandato de la Comisión Europea, el Comité Europeo de Normalización (CEN) TC408 junto con la asociación europea de biogás (EBA), comenzó a desarrollar y elaborar en 2010 unas normas comunes de calidad del biometano en la UE. El comité técnico elaboró y publicó dos normas europeas: la EN 16723-1,<sup>21</sup> publicada en 2016, con las especificaciones técnicas del biometano para su inyección en la red

de distribución de gas natural y la EN 16723-2, publicada en 2017,<sup>22</sup> con las especificaciones del gas natural y del biometano para su uso como combustible de vehículos. Estas normativas europeas sirven de apoyo e impulso al empleo de fuentes de energía sostenibles, permitiendo la seguridad de los ciudadanos europeos y la sostenibilidad del medioambiente. En la Tabla 3 se muestran algunas de las especificaciones técnicas del biometano impuestas por la norma común europea (EN 16723-1 y EN 16723-2).

**Tabla 3.** Especificaciones técnicas europeas del biometano para su inyección en la red de distribución del gas natural y para su uso como combustible de vehículos.<sup>23</sup>

	EN 16723-1:2016	EN 16723-2:2017
CO <sub>2</sub> (%)	<2.5 o 4 <sup>a</sup>	<2.5 o 4 <sup>a</sup>
O <sub>2</sub> (%)	<0.001 o 1 <sup>a</sup>	<1
H <sub>2</sub> S + COS (mg S m <sup>-3</sup> )	<5	<5
Mercaptanos (mg S m <sup>-3</sup> )	<6	<6
NH <sub>3</sub> (mg m <sup>-3</sup> )	<10	<10
Silicio volátil total (mg Si m <sup>-3</sup> )	0.3–1	0.1–0.5

Todos los volúmenes se indican en las condiciones normalizadas ISO: 15 °C y 101.325 kPa (1.01325 bar). <sup>a</sup> En los puntos de interconexión y de entrada a las redes, la fracción molar de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> no debe ser mayor de 2.5 % y 0.001 %, respectivamente. En instalaciones no sensibles a niveles superiores de estos gases, como son los sistemas de almacenamiento subterráneo, se pueden aplicar niveles superiores de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> (4 % y 1 %, respectivamente).

El hecho de que exista una normativa común sobre los parámetros de calidad del biometano, cuyo cumplimiento es requisito obligatorio, supone la necesidad de cuantificar cada uno de los parámetros fijados en la normativa y de demostrar que el biometano cumple con las especificaciones. Para una monitorización adecuada del gas se requiere el empleo de una instrumentación que permita medir de manera continua, *in situ* y en tiempo real la calidad del biometano. Aunque existe instrumentación que permite cuantificar los parámetros de calidad química del biometano, muchos de los equipos no pueden emplearse *in situ*, requieren de personal cualificado, necesitan de un mantenimiento frecuente y prolongado, son equipos costosos o sus características analíticas no son adecuadas para la aplicación (falta de sensibilidad o de selectividad). Por ello, es necesario el desarrollo de un sistema avanzado que permita monitorizar los parámetros de calidad del biometano de forma eficaz y fiable.

#### 1.4. El proyecto “Smart Green Gas”

“Smart Green Gas” (<http://www.engineering.naturgy.com/es/inicio/1297334424352/smart+green+gas.html>) nace del interés del biometano como energía renovable y de su posible uso junto con el gas natural, dada su similar composición química. La iniciativa busca la producción



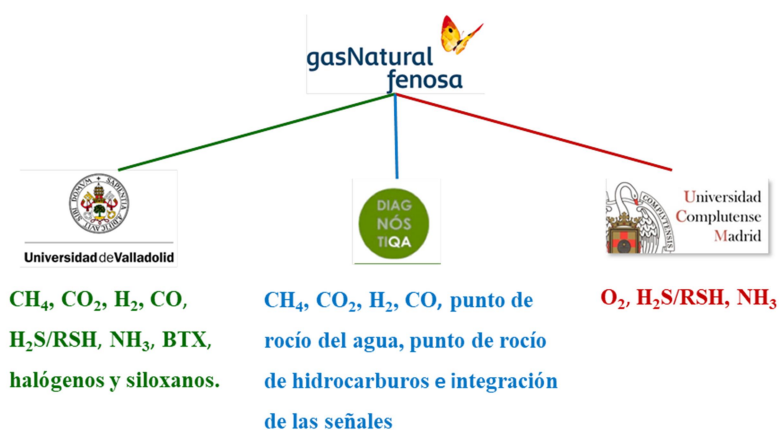
de un biometano de alta calidad a un coste competitivo, que pueda ser utilizado como biocombustible para vehículos o ser inyectado en la red de distribución de gas natural.

El proyecto ha sido impulsado por un consorcio de empresas constituido por Gas Natural Fenosa Engineering (actualmente Naturgy Engineering), FCC Aqualia, DiagnóstiQA, EDP-Naturgas Energía, Dimasa Grupo, Biogas fuel cell y Ecobiogás. En la realización de las actividades han participado además varios organismos públicos como la Universidad Complutense de Madrid (UCM), la Universidad de Valladolid (UVa), la Universidad de Santiago de Compostela (USC) y varios centros de investigación como Tecnalia, Leitat, Icrea y Lequia. Ha contado con un presupuesto de más de 8 millones de euros, la subvención del Centro de Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI) dentro del programa estratégico CIEN del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y la cofinanciación del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), dentro del Programa Operativo Plurirregional de Crecimiento Inteligente (2014–2020).

El proyecto se ha centrado en tres actividades fundamentales:

1. Desarrollo de nuevos sistemas eficientes de producción del biogás, liderado por FCC Aqualia.
2. Desarrollo de técnicas innovadoras y eficaces de valorización del biogás, que permitan disminuir costes de operación y mantenimiento, liderado por EDP-Naturgas Energía.
3. Desarrollo de un sistema avanzado de control y distribución inteligente de biometano, liderado por Gas Natural Fenosa Engineering.

Dentro de la tercera actividad, uno de los objetivos ha sido el diseño de un sistema de control inteligente remoto para la monitorización de la calidad del biometano. La actividad ha sido liderada por Gas Natural Fenosa Engineering y el trabajo ha sido desarrollado también por la UVa, la UCM y Diagnostiqa. Cada una de las entidades se ha encargado de desarrollar o adaptar tecnología para cuantificar un conjunto de parámetros de calidad química del biometano (ver Figura 3).



**Figura 3.** Esquema de las actividades realizadas en el diseño de un sistema de control inteligente remoto para la monitorización de la calidad del biometano. Mientras que la UVa y DiagnóstiQA han utilizado exclusivamente instrumentación comercial, la UCM ha desarrollado ex-novo un instrumento específico para la medida de los parámetros de calidad del biometano encomendados a ésta.



## 2. Cuantificación de oxígeno molecular (O<sub>2</sub>)

El O<sub>2</sub>, en condiciones normales, es un gas incoloro, inodoro e insípido. Se encuentra en la atmósfera constituyendo el 20.9 % de ésta a nivel del mar y es esencial para la respiración de los seres vivos. La medida del nivel de O<sub>2</sub> es crítica en muchos ámbitos, tales como en los procesos de combustión en la generación de energía, el control de procesos de producción tanto de sustancias químicas (HNO<sub>3</sub> o etilenglicol), como de materiales (acero), o de biocombustibles (biogás o el *bio-syngas*), en el tratamiento biológico de aguas residuales o en ambientes con riesgo de asfixia.

El O<sub>2</sub> es una molécula paramagnética pues posee sendos electrones desapareados en los orbitales moleculares  $\pi$  antienlazantes ( $\pi^*$ ) y, por tanto, el O<sub>2</sub> es atraído por campos magnéticos potentes. Además, es una molécula oxidante y, por consiguiente, corrosiva, produciendo el deterioro de materiales metálicos. Por último, es un gas comburente que, en contacto con un gas altamente inflamable, como es el biometano, y en presencia de una fuente de ignición (superficies calientes, llamas, chispas mecánicas o eléctricas, rayos o descargas electrostáticas), supone un riesgo de explosión e incendios.

La monitorización del O<sub>2</sub> en el biometano es de gran importancia. Primero, porque la presencia de este gas supone un peligro para la integridad de las instalaciones de gases, ya que es el causante de la corrosión en tuberías, sistemas de almacenamiento, máquinas y motores. Y segundo, porque su presencia puede conllevar un riesgo de explosión. Por ello, la norma europea EN 16726 de calidad del biometano ha establecido un límite máximo del 0.001 % (10 ppmv) en aquellos puntos sensibles a altos niveles de O<sub>2</sub>, como los puntos de entrada a la red y de interconexión, y del 1 % (10000 ppmv) en instalaciones menos sensibles como los sistemas de almacenamiento subterráneos.

Actualmente, existen varias técnicas que permiten cuantificar el O<sub>2</sub>.<sup>24-25</sup> A continuación, se describen algunas de ellas. En la Tabla 4 y Tabla 5 se presenta una recopilación de los sensores de O<sub>2</sub> descritos en la bibliografía y los disponibles comercialmente.

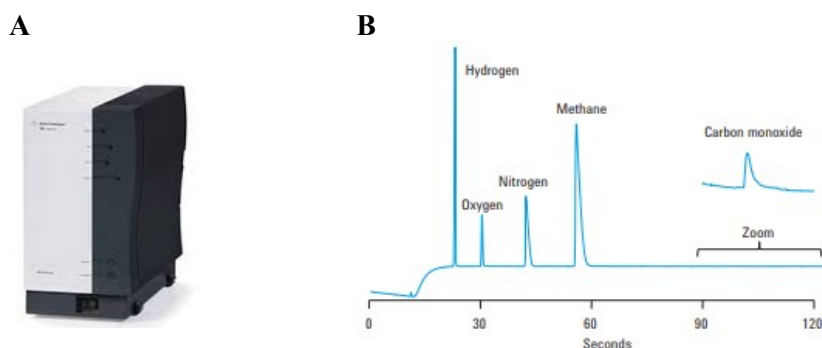
### 2.1. Cromatografía de gases

De acuerdo con la norma EN ISO 6974, el método estándar para la determinación de O<sub>2</sub> es la cromatografía de gases (GC) acoplada a un detector de conductividad térmica (TCD).<sup>26</sup> Este mismo método también se emplea para la determinación de los componentes mayoritarios del biometano como el CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>.

Los sistemas cromatográficos constan de un sistema de inyección de la muestra, un gas portador, una columna que se encuentra en el interior de un horno y un detector. En la cuantificación del O<sub>2</sub> se emplea una columna capilar con una capa interna de material adsorbente (tamices moleculares) y un detector TCD.<sup>27</sup>

La GC generalmente proporciona valores de concentración que incluyen el contenido de O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>. A pesar de la dificultad para separar estos dos componentes, es posible configurar el GC para obtener valores de concentración que correspondan únicamente al O<sub>2</sub>. Sin embargo, no se suele realizar, pues incrementa el tiempo de análisis, requiere del empleo de válvulas y columnas adicionales aumentando la complejidad del sistema y del mantenimiento de éste. El límite de detección que proporcionan los sistemas GC-TCD es típicamente de 100 ppmv de O<sub>2</sub>. Con un espectrómetro de masas se pueden alcanzar límites de detección más bajos (~ 70 ppmv).<sup>28</sup> No obstante, son equipos costosos que requieren de un mantenimiento frecuente y prolongado y del manejo por parte de un personal cualificado.

En cuanto a equipos comerciales, Agilent Technologies ofrece un GC para el análisis del biogás, el Agilent 490 Micro GC Biogas Analyzer, que permite cuantificar de forma rápida (< 150 s) componentes como el H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S e hidrocarburos de C<sub>2</sub> a C<sub>7</sub> (ver Figura 4). Además, proporciona valores de concentración de N<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> de forma separada.<sup>29</sup>



**Figura 4.** A) Equipo Agilent 490 Micro GC para el análisis del biogás.<sup>29</sup> B) Cromatograma típico que se obtiene con este equipo.<sup>29</sup>

## 2.2. Sensores electroquímicos

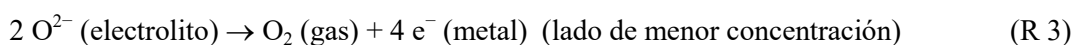
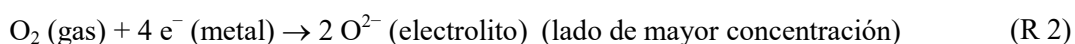
### 2.2.1. Potenciométricos

Los sensores potenciométricos constan de dos electrodos (de referencia y de trabajo) colocados a ambos lados de un electrolito sólido, conductor de iones O<sup>2-</sup>. El electrodo de referencia está en contacto con un gas de concentración de O<sub>2</sub> conocida (aire, con 20.9 % de O<sub>2</sub>), mientras que el electrodo de trabajo está en contacto con un gas de muestra de concentración

desconocida. La celda electroquímica de un sensor potenciométrico de  $O_2$  se puede describir de la siguiente forma:



Los iones oxígeno se mueven desde el lado del electrolito con mayor concentración de  $O_2$  al lado de menor concentración de  $O_2$ , estableciendo una diferencia de potencial entre los lados del electrolito sólido (ver Figura 5). Las reacciones electródicas que tienen lugar en contacto con las tres fases (electrolito/electrodo/gas) son las siguientes:



La diferencia de potencial generada depende de la actividad de la especie a través del electrolito y viene determinada por la ecuación de Nernst:

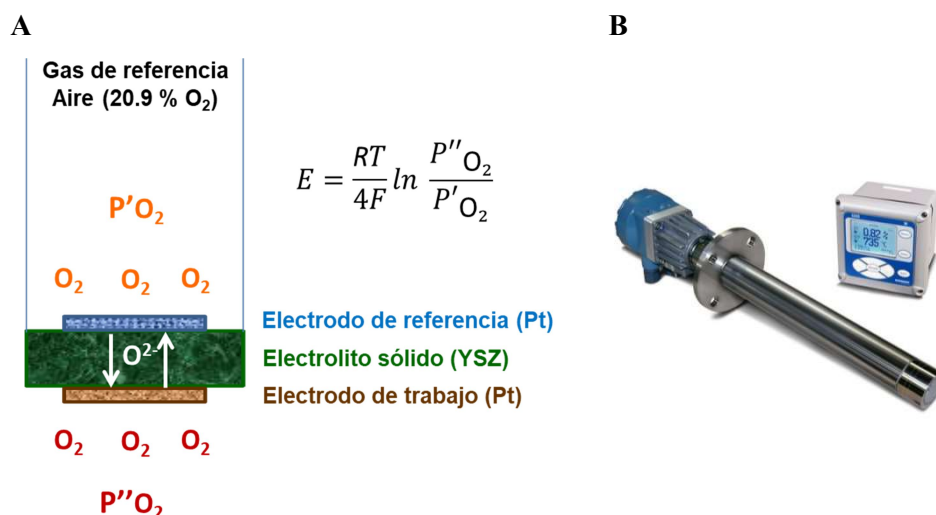
$$E = \frac{RT}{4F} \ln \frac{P''_{O_2}}{P'_{O_2}} \quad (E \ 1)$$

donde  $R$  es la constante de los gases ideales,  $F$  es la constante de Faraday,  $T$  es la temperatura,  $P'O_2$  la presión parcial de oxígeno en el electrodo de referencia y  $P''O_2$  la presión parcial de oxígeno en la muestra.

De este modo, conociendo la temperatura y la presión parcial de oxígeno en el electrodo de referencia (aire con un 20.9 %  $O_2$ ) y, midiendo el valor de la diferencia de potencial en el equilibrio, es posible calcular la presión parcial de oxígeno de la muestra mediante la ecuación de Nernst.

Se han estudiado una variedad de electrolitos sólidos como  $Bi_2O_3$ ,  $Gd_2O_3$  dopado con  $CeO_2$ , o “YSZ” ( $ZrO_2$  dopado con 8 % mol de  $Y_2O_3$ ), siendo el electrolito de circonia estabilizada con itria el más empleado.<sup>30-35</sup> En la Figura 5 se ilustra el esquema de un sensor potenciométrico de electrolito sólido de YSZ.

Estos sensores constan de una capa de YSZ que actúa como electrolito situada entre dos electrodos de platino puestos en contacto con el gas a medir y con el gas de referencia de concentración de  $O_2$  constante.

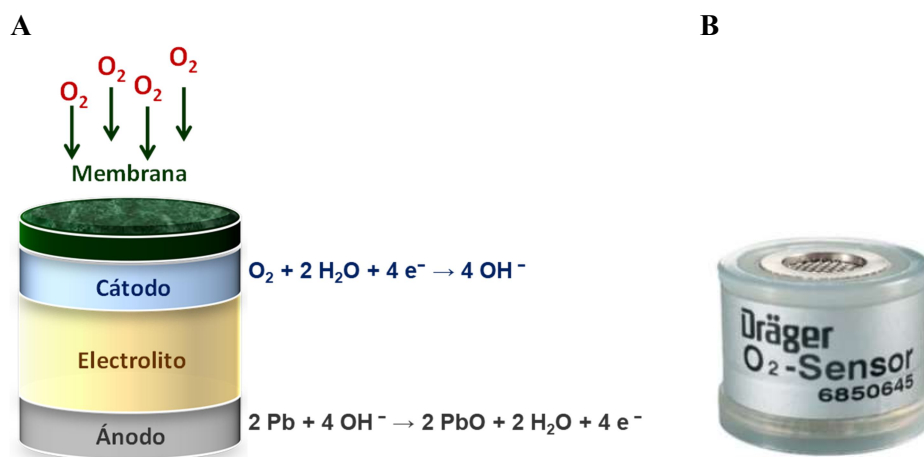


**Figura 5.** A) Esquema del sensor potenciométrico de O<sub>2</sub>. B) Sensor potenciométrico de O<sub>2</sub> de Rosemount Inc.<sup>36</sup>

En general, se trata de sensores sencillos, robustos y de fácil fabricación. Se han empleado en medidas de O<sub>2</sub> en calderas de combustión, así como en el campo de la automoción, utilizándose para el control de los motores de combustión con el objetivo de reducir la emisión de gases tóxicos y mejorar la eficacia de la combustión y el consumo de combustible. Los sensores potenciométricos proporcionan unos límites de detección (LOD) superiores a 200 ppmv, y permiten determinar el O<sub>2</sub> en un amplio intervalo de concentraciones (0–21 %). Operan en condiciones de alta temperatura (> 400 °C), requieren de un gas de referencia y presentan dependencia de la respuesta del sensor con parámetros como la composición del gas o la temperatura.

### 2.2.2. Electro-galvánicos

Los sensores electro-galvánicos constan de un electrodo de trabajo (electrodo inerte de Au), un contraelectrodo (electrodo de Pb, Cu, Cd o Zn), un electrolito acuoso y una membrana permeable directamente en contacto con la muestra. El O<sub>2</sub> atraviesa la membrana permeable y se reduce en el cátodo. Los iones hidroxilo generados en la reducción del O<sub>2</sub> migran a través del electrolito al ánodo, donde tiene lugar la oxidación del Pb a PbO<sub>2</sub>. La corriente eléctrica resultante que circula a través de la celda electroquímica es proporcional a la concentración de O<sub>2</sub> (ver Figura 6).<sup>37</sup>



**Figura 6.** A) Esquema del sensor electro-galvánico de  $O_2$ . B) Celda electroquímica del sensor electro-galvánico de  $O_2$  de Dräger.<sup>38</sup>

La mayoría de los sensores galvánicos emplean una reacción química que consume reactivo, como la oxidación del Pb a  $PbO_2$ . Por ello, tienen una vida útil de 6 a 24 meses, que dependerá de la velocidad a la que se consume el Pb y, por tanto, del uso del sensor y de las concentraciones de analito medidas. No obstante, existen sistemas electroquímicos que se basan en una reacción química que no consume reactivo, en los que el  $O_2$  se reduce en el cátodo y el  $H_2O$  producido se convierte de nuevo en  $O_2$  en el ánodo mediante la aplicación de un pequeño voltaje (electrolisis del agua,  $2 H_2O \rightarrow O_2 + 4 H^+ + 4 e^-$ ). El sensor puede funcionar así durante un periodo largo ( $> 4$  años).

Los sensores electro-galvánicos presentan sensibilidad cruzada con otros gases como el  $CO_2$  y  $CH_4$ , y requieren unas condiciones de humedad mínimas ( $> 5\%$ ), lo que impide su aplicación en la determinación de  $O_2$  en biometano. La presencia en la muestra de especies ácidas como sulfuro de hidrógeno o dióxido de azufre limitan notablemente la vida útil del sensor.

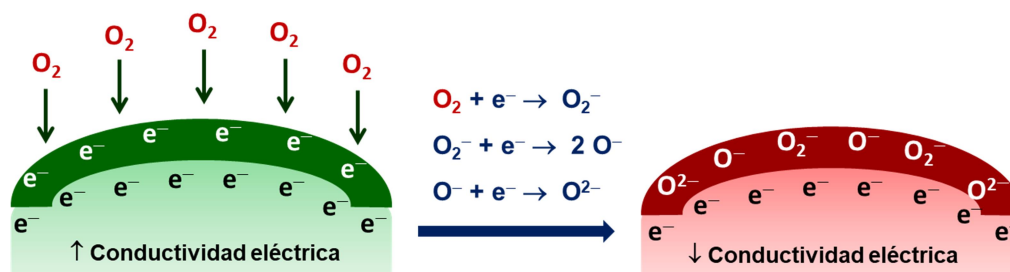
### 2.3. Sensores basados en óxidos metálicos semiconductores

Estos sensores están constituidos por óxidos metálicos semiconductores cuyas propiedades eléctricas (resistencia o conductividad eléctrica) varían al interaccionar con especies gaseosas como el  $O_2$ . La adsorción de un gas sobre el material semiconductor crea un exceso o defecto de cargas en la superficie, con la consiguiente variación de la conductividad superficial del óxido metálico semiconductor.

De este modo, el  $O_2$  adsorbido en la superficie del óxido metálico extrae electrones de la superficie en forma de iones, dejando una región empobrecida en electrones, lo que produce un



cambio en la conductividad del material (Figura 7). En función de la temperatura, el O<sub>2</sub> adsorbido químicamente se encuentra como O<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sup>-</sup> u O<sup>2-</sup>. Este proceso es reversible, pues la conductividad del material se reestablece por adsorción competitiva de un gas que reemplace a las moléculas de O<sub>2</sub> adsorbidas o bien por reacción con un gas reductor como el CO, formando CO<sub>2</sub>.



**Figura 7.** Esquema del mecanismo de detección de los sensores de O<sub>2</sub> basados en óxidos metálicos semiconductores.

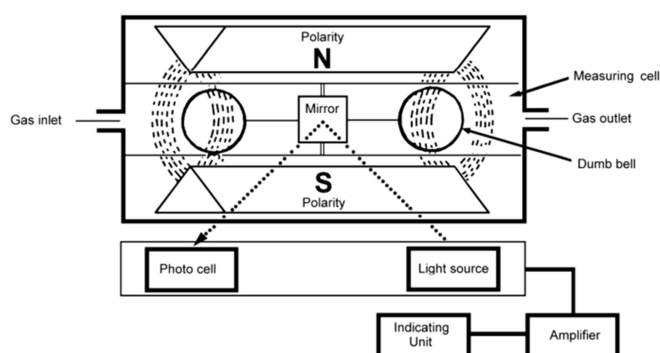
Se han estudiado diversos óxidos metálicos semiconductores como CeO<sub>2</sub>, Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, SrTiO<sub>3</sub> y TiO<sub>2</sub>.<sup>39-40</sup> Los óxidos metálicos dopados con metales nobles (Au, Pt, Ag o Pd) han permitido mejorar la sensibilidad de estos sensores.<sup>41-42</sup>

Los sensores de óxido metálico son baratos, simples, robustos y no requieren un gas de referencia. Sin embargo, presentan baja selectividad, pudiendo proporcionar lecturas erróneas debido a la presencia de otros gases. Además, la respuesta y la sensibilidad de los sensores conductimétricos dependen fuertemente de la temperatura y de la humedad. La mayoría de estos sensores operan a una temperatura óptima, que suele estar entre 300 y 450 °C, donde la sensibilidad del sensor es máxima. Por encima o por debajo de la temperatura óptima, la sensibilidad decae rápidamente. Además, la presencia de humedad reduce la sensibilidad de estos sensores, por lo que su calibración suele ser complicada.

## 2.4. Dispositivos paramagnéticos

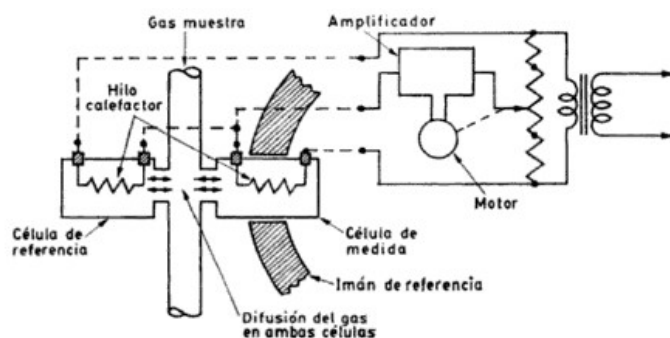
Los dispositivos paramagnéticos de cuantificación de O<sub>2</sub> están basados en la susceptibilidad del O<sub>2</sub> de ser atraído por un campo magnético por el hecho de ser una molécula paramagnética y disponer de dos electrones desapareados en sus orbitales π\*. En estos dispositivos, la muestra se hace pasar a través de un campo magnético de forma que el O<sub>2</sub> presente en el gas es atraído por el mismo. Permite trabajar con tres métodos distintos: magnetodinámico, termomagnético o Quinke.

El método magnetodinámico se basa en dos esferas de vidrio rellenas de nitrógeno ( $N_2$ ) colocadas sobre un eje giratorio situado entre los polos de un imán. En presencia del campo magnético generado por el imán, el  $O_2$  es atraído hacia el imán y provoca el desplazamiento de las esferas rellenas de  $N_2$ , haciendo que el eje gire de acuerdo a la susceptibilidad magnética de la muestra. Un espejo colocado en el centro del eje que une las dos esferas permite detectar el contenido de  $O_2$ , mediante un haz de luz infrarroja que incide sobre el espejo y un fotodetector que detecta la luz reflejada. El giro del eje provocado por el  $O_2$  modifica la luz que reciben los fotodetectores (ver Figura 8).<sup>43-44</sup>



**Figura 8.** Esquema del método magnetodinámico de detección de  $O_2$ .<sup>45</sup>

Los analizadores termomagnéticos constan de dos cámaras idénticas (de referencia y de medida), cada una de ellas con un pequeño calefactor, por donde circula el flujo de gas de muestra. El campo magnético aplicado, sólo sobre la cámara de medida, provoca que el  $O_2$  se vea atraído y desplace a otros gases de la cámara produciendo un enfriamiento más rápido del calefactor. Las diferencias de temperatura medidas entre ambos calefactores son proporcionales a susceptibilidad magnética del  $O_2$ , y, por tanto, a su concentración (ver Figura 9).<sup>46</sup>



**Figura 9.** Esquema del método termomagnético de detección de  $O_2$ .<sup>47</sup>

Por último, el método Quincke se basa en la medida de la diferencia de presión entre un gas de referencia y la muestra de gas. El gas de referencia (nitrógeno o argón) se bifurca en dos flujos que circulan a través de dos canales hacia la célula de la muestra. Por efecto del campo

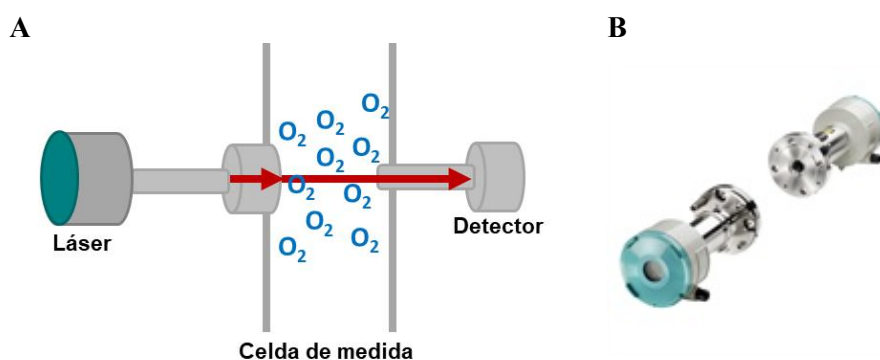
magnético aplicado en el extremo de uno de los canales del gas de referencia, el O<sub>2</sub> de la muestra es atraído hacia el mismo canal, produciéndose un encuentro entre el gas de la muestra y el gas de referencia. Este encuentro origina una diferencia de presión o de caudal entre los dos gases.<sup>48</sup>

Los analizadores paramagnéticos de O<sub>2</sub> son menos sensibles que otros métodos como los ópticos, con intervalos de medida entre 0.005 y 100 % de O<sub>2</sub>. Son poco selectivos pues presentan interferencias de otros gases, como el NO y NO<sub>2</sub>. Además, requieren un minucioso pre-acondicionamiento de la muestra, en el que se eliminan partículas, gases corrosivos o disolventes que puedan dañar el analizador, y del equipo (estabilización del caudal, presión y temperatura).

## 2.5. Sensores ópticos

### 2.5.1. Espectroscopía de diodo láser sintonizable (TDLAS)

Los sensores basados en TDLAS permiten la cuantificación del O<sub>2</sub> a partir de la absorción infrarroja del gas a ~ 760 nm. Constan de una celda de medida a través de la cual pasa la muestra de gas, un láser que, en función del analito, es sintonizado para emitir luz en una banda estrecha de longitudes de onda, en la región del infrarrojo cercano del espectro electromagnético, y un detector, que cuantifica la luz transmitida. La luz del láser incide sobre la muestra en la celda de medida. Parte de la luz es absorbida por las moléculas de O<sub>2</sub>, mientras que el resto llega al detector y es cuantificada (Figura 10).



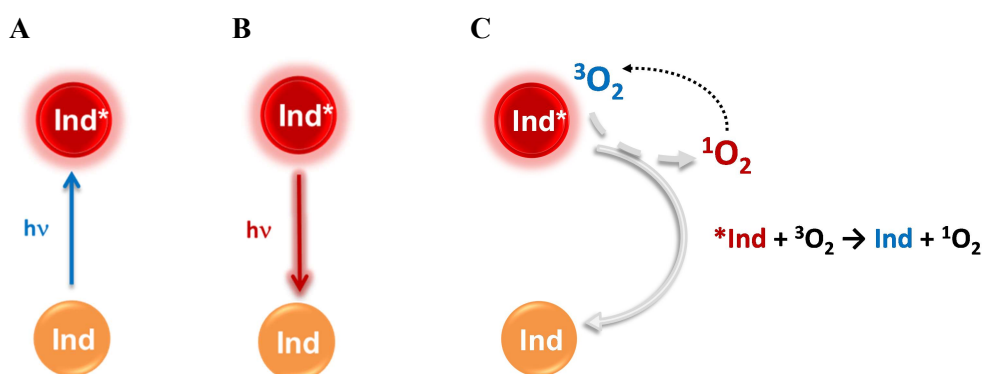
**Figura 10.** A) Esquema del sensor TDLAS de O<sub>2</sub>. B) Sensor TDLAS comercial de O<sub>2</sub> de Siemens.<sup>49</sup>

Es una técnica que permite cuantificar de forma selectiva el O<sub>2</sub> en un amplio intervalo de concentraciones, con límites de detección en torno a las 100 ppmv y tiempos de respuesta muy cortos (2 s). Es aplicable a medidas en campo y en tiempo real, como en el control de procesos, en intervalos de temperatura muy amplios (0–1500 °C). No requiere calibraciones ni

mantenimientos frecuentes. Sin embargo, son equipos caros y no son tan sensibles como los basados en otras técnicas.<sup>50</sup>

### 2.5.2. Espectroscopía de emisión molecular

Los sensores luminiscentes\* se basan en la desactivación de la emisión de luz de una molécula indicadora o luminóforo en presencia de un analito, en este caso de O<sub>2</sub>. Las moléculas indicadoras son capaces de emitir luz desde un estado electrónico excitado que se alcanza por absorción de radiación electromagnética. Esta emisión de luz se le conoce como luminiscencia la cual, en función del tiempo de vida de la emisión<sup>#</sup>, se clasifica en fluorescencia (10<sup>-10</sup>–10<sup>-7</sup> s) o fosforescencia (10<sup>-6</sup>–1 s). El O<sub>2</sub> presente en la muestra interacciona con la molécula indicadora, colisionando con ella y provocando la desactivación de su estado excitado con la consiguiente disminución de la intensidad y tiempo de vida de emisión. De este modo, a partir de las medidas de intensidad o tiempo de vida de emisión de un luminóforo, se puede cuantificar la concentración de O<sub>2</sub> en una muestra (Figura 11).



**Figura 11.** A) Excitación de la molécula indicadora con radiación electromagnética, en la que tiene lugar la promoción de un electrón de un estado electrónico fundamental a un estado electrónico excitado. B) Desactivación radiante del estado electrónico excitado con la consiguiente emisión de luz (luminiscencia) en ausencia de desactivador alguno. C) Desactivación no radiante del estado electrónico excitado debido a la presencia de O<sub>2</sub>. Dicho proceso fotoinducido conduce al estado fundamental del indicador y a un estado electrónico excitado de la molécula de oxígeno denominado “oxígeno singlete” (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) de vida muy corta (μs).

La cinética de la desactivación colisional de la luminiscencia, en un medio isotrópico, obedece a la ecuación de Stern-Volmer:<sup>51</sup>

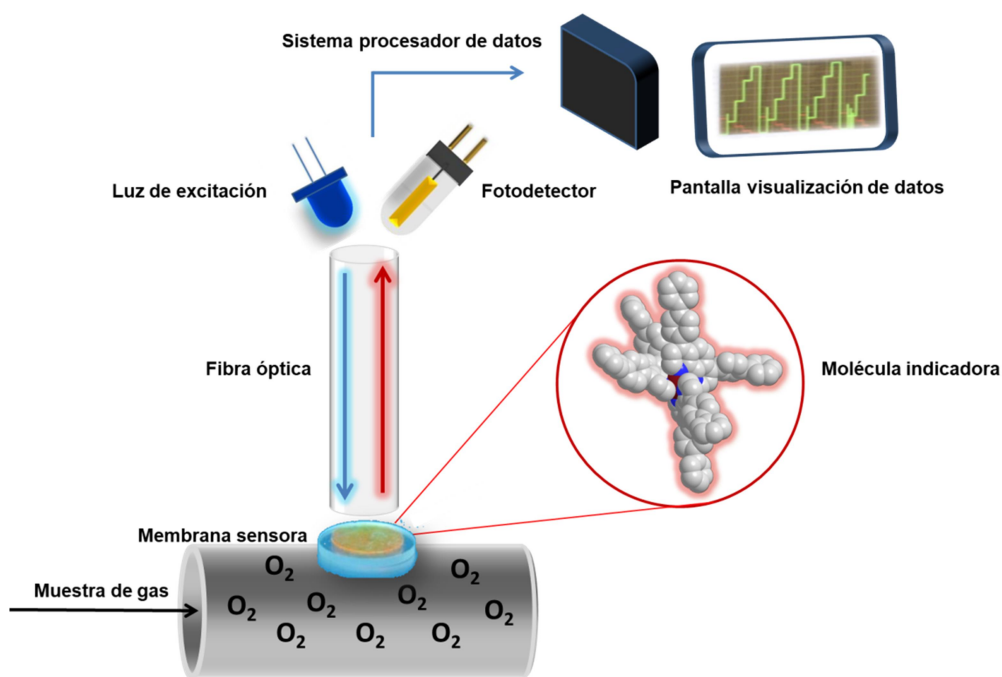
\* El término “*luminiscencia*” se ha utilizado en esta memoria para referirse a la vez a los fenómenos de fluorescencia y fosforescencia.

<sup>#</sup> Se denomina “*tiempo de vida*” al inverso de la constante de velocidad que engloba todos los procesos de desactivación unimolecular (o pseudounimolecular) de un estado excitado.

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 P_{O_2} = 1 + K_{SV} P_{O_2} \quad (E\ 2)$$

donde  $I$  e  $I_0$  son las intensidades de luminiscencia en presencia y en ausencia de O<sub>2</sub>,  $\tau$  y  $\tau_0$  son los tiempos de vida del estado excitado emisor en presencia y ausencia del O<sub>2</sub>,  $k_q$  es la constante de desactivación bimolecular de dicho estado excitado y  $K_{SV}$  es la denominada “constante de Stern-Volmer”. De esta ecuación se deduce que la sensibilidad de la membrana sensora depende del tiempo de vida de la molécula indicadora excitada, en ausencia de O<sub>2</sub>, y de la constante de desactivación bimolecular. Cuanto mayor sean tanto el  $\tau_0$  como la  $k_q$ , mayor será la sensibilidad del sensor luminiscente.

Los sensores luminiscentes constan de una fase sensora constituida por una molécula indicadora luminiscente sensible al O<sub>2</sub> y una matriz polimérica permeable al O<sub>2</sub>. La fase sensora se ilumina con una fuente de luz de excitación, y la luz emitida por la molécula indicadora es recogida por un fotodetector. Tanto la luz de excitación como la luz de emisión viajan a través de una fibra óptica (por conveniencia de diseño y facilidad de uso, no por necesidad). La señal proporcionada por el fotodetector es recogida por un sistema de procesamiento de señales y mostrada en una pantalla de visualización de datos (ver esquema del sensor en la Figura 12).



**Figura 12.** Esquema de un sensor luminiscente para la detección y cuantificación de O<sub>2</sub>.

Los sensores luminiscentes presentan una elevada sensibilidad y estabilidad, son muy selectivos, poseen tiempos de respuesta cortos y son muy apropiados para utilizarse *in situ*. Se

pueden encontrar ya varios modelos comerciales que emplean como indicadores luminiscentes complejos de Ru(II) o metaloporfirinas.<sup>52</sup>

#### 2.5.2.1. Indicadores luminiscentes de O<sub>2</sub>

A la hora de fabricar la membrana sensora de O<sub>2</sub>, tanto la selección del indicador como del soporte son cruciales en el desarrollo de un sensor luminiscente de O<sub>2</sub>, pues ambos componentes determinan la sensibilidad, selectividad, intervalo dinámico, tiempo de respuesta y fotoestabilidad del sensor. En el desarrollo de sensores luminiscentes de O<sub>2</sub> se han empleado una gran variedad de indicadores luminiscentes.<sup>53-54</sup> En este apartado se ofrece una breve descripción de los principales tipos (ver estructuras químicas en la Figura 13).

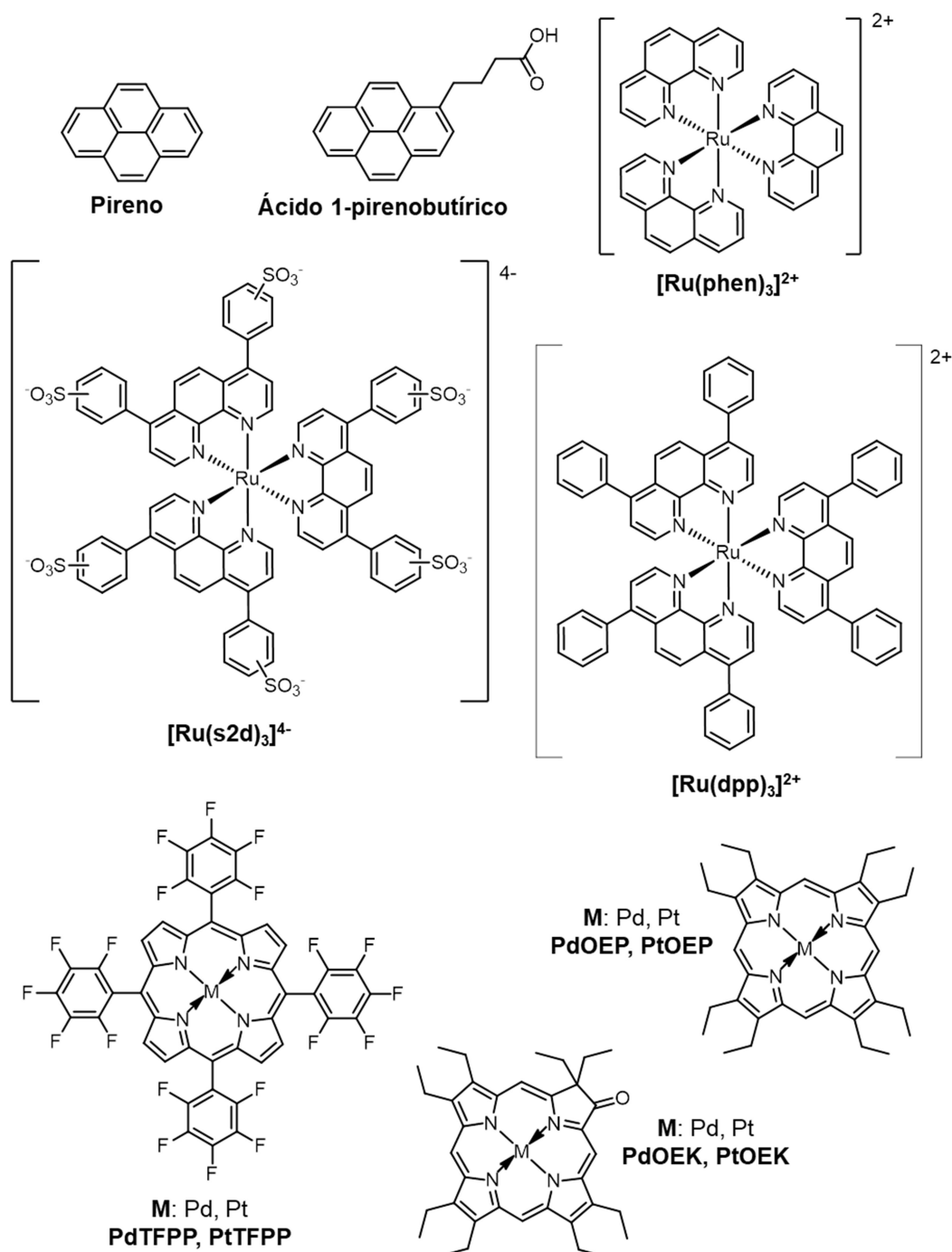
Los hidrocarburos policíclicos aromáticos como el pireno y sus derivados son compuestos orgánicos fluorescentes con tiempos de vida de luminiscencia de 0.1 a 0.45  $\mu$ s, empleados desde el principio como indicadores en la detección de O<sub>2</sub>. Actualmente su uso está muy limitado por su baja fotoestabilidad.

Otro grupo de indicadores ampliamente empleado en el desarrollo de sensores de O<sub>2</sub> está constituido por los compuestos de coordinación de metales de transición. Su elevada fotoestabilidad, sus largos tiempos de vida de luminiscencia y la posibilidad de modular tanto sus propiedades espectrales como sus propiedades químicas y físicas, mediante la sustitución de los ligandos unidos al metal, hacen a estos compuestos una opción atractiva para la cuantificación de O<sub>2</sub>. Se han estudiado complejos de rutenio(II), iridio(III), osmio(II), renio(I) y de algunos lantánidos como complejos de europio(III), terbio(III) o gadolinio(III).<sup>55-57</sup> Los complejos de Ru(II) han sido probablemente los indicadores más ampliamente investigados y empleados en el desarrollo de sensores luminiscentes de O<sub>2</sub>. Indicadores como el tris(1,10-fenantrolina)rutenio(II) ([Ru(phen)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>), el tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)rutenio(II) ([Ru(dpp)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>), o el tris(1,10-fenantrolina-4,7-di(fenilsulfonato))rutenio(II) ([Ru(s2d)<sub>3</sub>]<sup>4+</sup>) se han inmovilizado en multitud de soportes permeables al O<sub>2</sub> tales como silicona, materiales sol-gel de sílica, alquilcelulosas, gel de sílice o poli(estireno).<sup>58-61</sup> Presentan tiempos de vida de 0.1 a 6  $\mu$ s, dependiendo de los ligandos, buena fotoestabilidad y han demostrado su aplicación “en campo”. De hecho, muchos de los sensores comerciales están basados en este tipo de colorantes luminiscentes.

Otro tipo de indicadores comunes en la fabricación de sensores de O<sub>2</sub> son las metaloporfirinas de Pd(II) y Pt(II). Los elevados tiempos de vida de emisión (desde decenas de  $\mu$ s hasta ms) hacen a estos indicadores especialmente adecuados para aquellas aplicaciones que requieren una elevada sensibilidad y bajos límites de detección.<sup>62-64</sup> Las metaloporfirinas como

la octaetilporfirina de platino(II) (PtOEP), la octaetilporfirina de paladio(II) (PdOEP), la octaetilcetoporfirina de platino(II) (PtOEK) o la octaetilcetoporfirina de paladio(II) (PdOEK) se han estudiado ampliamente. Sin embargo, la poca fotoestabilidad de estos indicadores debido a la fotooxidación del anillo de porfirina ha limitado su aplicación. Estudios realizados han demostrado que la sustitución de las metaloporfirinas con halógenos, como por ejemplo la 5,10,15,20-tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)porfirina de platino(II) (PtTFPP) o la 5,10,15,20-tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)porfirina de paladio(II) (PdTFPP), mejora notablemente su fotoestabilidad. Del mismo modo que los complejos de Ru(II), estos indicadores se han inmovilizado en distintos soportes y se han utilizado ampliamente, llegando a alcanzar límites de detección (LOD) de 15 ppbv.<sup>62</sup>

Por último, en el desarrollo de sensores de ultratrazas de O<sub>2</sub> (del orden de las ppbv), se están estudiando indicadores con elevados tiempos de vida de emisión (superiores al ms) como los fullerenos, con tiempos de vida de emisión de 25 ms, que alcanzan LODs de 0.25 ppmv<sup>65-66</sup> y quelatos de difluoruro de boro y complejos de Al(III) fosforescentes, con tiempos de vida de emisión de cientos de ms, que alcanzan LODs de 45 ppbv y 5 ppbv, respectivamente.<sup>67</sup>



**Figura 13.** Estructura química de los típicos indicadores luminiscentes de O<sub>2</sub>.

#### 2.5.2.2. Soportes poliméricos

Los indicadores luminiscentes de O<sub>2</sub> no se pueden emplear normalmente de manera directa, sino que previamente deben inmovilizarse en una membrana polimérica que, además de actuar como soporte sólido de indicador, determina junto con el indicador las propiedades analíticas del sensor. Confiere *selectividad* al sensor, siendo permeable al O<sub>2</sub> y evitando el paso de otras especies también desactivantes de la luminiscencia del indicador, proporciona *sensibilidad* a la membrana sensora al concentrar el analito en el interior de la misma y confiere *estabilidad* a



largo plazo, evitando la pérdida de indicador por lavado (para las medidas en disolución). Además, influye directamente en el *tiempo de respuesta* del sensor y en la eficacia de la *excitación* luminosa y recolección de la *emisión* del indicador embebido en ella.

Un buen soporte debe ser compatible en términos de solubilidad con el indicador, de tal forma que éste permanezca en su interior sin agregarse ni lixivarse. Debe poseer una adecuada permeabilidad y velocidad de difusión del O<sub>2</sub>, de manera que el sensor disponga de una sensibilidad al O<sub>2</sub> y tiempo de respuesta acorde a las necesidades. Por último, debe ser térmicamente y químicamente estable, sin degradarse a largo plazo.

En el desarrollo de sensores de O<sub>2</sub> se han utilizado una amplia variedad de soportes.<sup>54,68-70</sup> Uno de los primeros materiales empleados fue el poli(dimetilsiloxano) (“silicona” o PDMS, con permeabilidad típica de  $200 \times 10^{-15} \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ), un polímero orgánico hidrofóbico con elevada permeabilidad al O<sub>2</sub> y excelentes propiedades ópticas y mecánicas. La silicona, con cantidades variables de carga inorgánica (e.g. sílice nano/microparticulada, con o sin modificación hidrofóbica de su superficie) u orgánica (e.g. nanopartículas de politetrafluoroetileno), se utiliza mediante su extensión en forma de película delgada sobre una superficie de vidrio o plástico y curado posterior.<sup>71</sup>

Otros polímeros orgánicos hidrofóbicos como la etilcelulosa (EC,  $P = 5 \times 10^{-15} \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ), el poli(estireno) (PS,  $P = 0.053 \times 10^{-15} \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ), el poli(metracrilato de metilo) (PMMA,  $P = 0.015 \times 10^{-15} \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ) o el poli(cloruro de vinilo) (PVC,  $P = 0.015 \times 10^{-15} \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ) han sido también objeto de estudio. Sin embargo, estos soportes presentan una menor permeabilidad al O<sub>2</sub> en comparación con la silicona, especialmente el PS, PMMA y el PVC, lo que limita la sensibilidad del sensor. Por ello, estos soportes suelen combinarse con indicadores de alto tiempo de vida de luminiscencia. La hidrofobicidad de estos soportes dificulta en ocasiones la inmovilización de los indicadores iónicos como los complejos de Ru(II). No obstante, es posible lograr su inmovilización sustituyendo los aniones inorgánicos de estos complejos por aniones orgánicos o adsorbiendo estos indicadores en soportes inorgánicos como el gel de sílice, dispersando posteriormente las micro/nanopartículas en la matriz de silicona.

Otra opción es emplear soportes hidrofóbicos como el poli(1-trimetilsilil-1-propino) o PTMSP, el polímero más permeable al O<sub>2</sub> de todos cuantos se conocen.<sup>72</sup> Se encuentra disponible comercialmente en forma sólida en unos pocos fabricantes. Se utiliza mediante disolución en un hidrocarburo y deposición en forma de película delgada mediante “*spin coating*” sobre una superficie plástica transparente a la luz. Es posible introducir cargas inorgánicas u orgánicas antes de la fabricación de la película sensora. Su aplicación está

limitada debido a la poca estabilidad de este soporte en el tiempo, lo que provoca la rápida degradación del sensor.

Dejando a un lado los homopolímeros, el empleo de copolímeros permite modular la permeabilidad variando la proporción de los monómeros. Así, los copolímeros fluorados se han posicionado como excelentes soportes para el desarrollo de sensores de elevada sensibilidad y bajos LOD, como el poli(estireno-co-pentafluoroestireno), el nafi<sup>®</sup> (poli(tetrafluoroetileno) con cadenas de éteres vinílicos perfluorados con grupos sulfónico), o soportes como el Tefl<sup>®</sup> AF (copolímero de tetrafluoroetileno y 2,2-bistrifluorometil-4,5-difluoro-1,3-dioxol,  $P = 120 \times 10^{-15} \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ) o el Hyflon<sup>®</sup> AD (copolímero de tetrafluoroetileno y 2,2,4-trifluoro-5-trifluorometoxi-1,3-dioxol,  $P = 17 \times 10^{-15} \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ). Se trata de polímeros en polvo grueso cuya disolución en ciertos disolventes perfluorados permite la fabricación de películas delgadas mediante “*spin coating*” o moldeado (“*casting*”).

Además de los polímeros orgánicos, existen una gran variedad de materiales inorgánicos de alta permeabilidad al O<sub>2</sub> que sirven de soporte a los indicadores luminiscentes de O<sub>2</sub>, como el gel de sílice, el vidrio poroso o los materiales sol-gel síliceos. El gel de sílice presenta una elevada superficie específica ( $300 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ) y capacidad de adsorción (del indicador y el analito), lo que proporciona una alta sensibilidad al sensor. Se pueden encontrar distintos tipos de gel de sílice con distinta polaridad (hidrofílica e hidrofóbica), distinto tamaño de partícula y modificada con grupos funcionales de distinta naturaleza en su superficie, como grupos bencenosulfónico o grupos amino cuaternario, permitiendo la inmovilización de los indicadores por adsorción o unión electrostática. Los complejos de Ru(II) adsorbidos en gel de sílice han mostrado una mucha mayor sensibilidad que los inmovilizados directamente en polímeros orgánicos como la silicona.<sup>73</sup> Por ello este soporte es adecuado para aquellas aplicaciones que requieren una mayor sensibilidad.

El vidrio poroso de poro controlado (CPG y Vycor<sup>®</sup>) es un soporte constituido por poros de tamaño de 0.3 a 1000 nm, con una superficie muy reactiva que puede funcionalizarse proporcionando vidrio con grupos químicamente reactivos en su superficie tales como tiol, carboxilo, hidroxilo o alquilamino. Estos grupos reactivos permiten la robusta unión covalente de indicadores luminiscentes en la superficie del soporte, como la formación de enlaces amida entre el vidrio derivatizado con grupos amino y un complejo de Ru(II) con ligandos fenantrolina con grupos sulfonato.<sup>74</sup>

Los materiales sol-gel síliceos, a diferencia del vidrio convencional, son materiales de alta porosidad preparados a temperatura ambiente por policondensación de alcoxisilanos en medio hidroalcohólico, catalizada por ácidos o bases (proceso de fabricación de vidrio en frío).<sup>75</sup> Pueden emplearse dialquildialcoxisilanos como co-monómeros, obteniendo así los denominados

“ormosils” (“*organically-modified silicas*”),<sup>76</sup> materiales de propiedades controladas (polaridad, homogeneidad, superficie, tamaño de poro), variables a voluntad. Los denominados xerogeles se obtienen de la mezcla de tetraalcoxisilanos con agua y alcoholes, en presencia de un catalizador. Se originan así pequeñas cadenas de policondensado (“sol”) que crecen y evolucionan a un gel que acaba formando un material seco (“xerogel”), al evaporarse el disolvente. El indicador se puede incorporar fácilmente en la mezcla de reactivos y la fabricación de la película sensora puede llevarse a cabo por deposición del sol mediante “*spin coating*”, “*dip coating*” o “*knife coating*” sobre una ventana transparente de vidrio o plástico. El inconveniente de estos materiales es que evolucionan de manera continua durante muy largo tiempo, lo que provoca cambios en la respuesta del sensor. Su preparación es compleja y sus características finales dependen de muchos factores (cantidad relativa de precursores, catalizadores, disolventes, pH, temperatura).

Recientemente, incluso se han inmovilizado covalentemente indicadores de Ru(II) sobre semiconductores de tipo GaN para la fabricación de sensores de O<sub>2</sub> directamente sobre la superficie de este material en diodos emisores de luz (LED) azul.<sup>77</sup> Esta inmovilización permite fabricar sensores extraordinariamente pequeños y compactos (300 μm), integrables como componentes directamente en placas de circuitos integrados (PCBs) para dotarlas de sensores de dicho gas y aprovechar el alto índice de refracción del GaN, que dificulta la extracción de su electroluminiscencia azul.<sup>78</sup> La sensibilidad del material sensor así fabricado puede controlarse mediante la utilización de aminoalquilsilanos de diferente longitud.<sup>79</sup>

**Tabla 4.** Resumen de los sistemas de cuantificación de O<sub>2</sub> en fase gas más representativos.

Tipo	Material sensor	Intervalo de medida	LOD (ppmv) <sup>a</sup>	$t_{90}$ (s) <sup>b</sup>	$t_{-90}$ (s) <sup>b</sup>	Interferencias	Temperatura de trabajo	Ref.
Potenciométrico	Pt/YSZ	3–21 %	-	108	-	-	500 °C	31
Potenciométrico	LSFCO/YSZ	0.02–21 %	-	66	-	-	700 °C	32
Potenciométrico	Pt/YSZ	0.05–21 %	-	< 120	-	-	500–600 °C	33
Potenciométrico	BaFeO <sub>3</sub> /YSZ	0.05–21 %	-	-	-	NH <sub>3</sub> , N <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , NO <sub>2</sub> , NO, CO	500–600 °C	33
Quimio-resistivo	In <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0–20 %	-	20–700	70–1000	-	80–350 °C	41
Quimio-resistivo	Pt-In <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0–20 %	-	10–1000	10–1000	-	25–350 °C	41
Quimio-resistivo	Pd-In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> and Pt-In <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0–20 %	-	-	-	-	200 °C	42
Luminiscente	<sup>13</sup> C <sub>70</sub> Poliestireno	0–150 ppmv	0.53	-	-	-	RT	66
	Etilcelulosa		0.25					
	Ormosil		0.32					
Luminiscente	BF <sub>2</sub> (HBAN)/Poliestireno	0–100 ppmv	0.045	-	-	-	RT	67
Luminiscente	Al(HPhNPF) <sub>3</sub> /Hyflon AD 60	0–100 ppmv	0.010	-	-	-	RT	67
Luminiscente	Al(HBANPF) <sub>3</sub> Teflon AF 1600	0–100 ppmv	0.005	-	-	-	RT	67
Luminiscente	PtTFPP/Gel de sílice en silicona	0–9869 ppmv	2.4	0.150	-	-	RT	62
Luminiscente	PdTFPP/Gel de sílice en silicona	0–987 ppmv	0.015	0.150	-	-	RT	62
Luminiscente	RD3/Nanopartículas de sílice	0–100 %	180	62	93	No (SO <sub>2</sub> )	RT	80
Luminiscente	RD3/Ormosil	0–50 %	75	70	83	-	RT	58
Luminiscente	I <sub>2</sub> -BODIPY/Polipropileno	0–20 %	200	9	101	-	RT	81

<sup>a</sup> Límite de detección. <sup>b</sup> Tiempo de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) para un cambio de señal del 90 %. RT: Temperatura ambiente.

**Tabla 5.** Algunos sensores comerciales de O<sub>2</sub> en fase gas.

Tipo de analizador	Fabricante	Intervalo de medida (% O <sub>2</sub> )	LOD (ppmv) <sup>a</sup>	t <sub>90</sub> (s) <sup>b</sup>	Exactitud	Interferencias	Ref.
Potenciométrico	Rosemount	0–10	200	< 8	± 0.1 % lectura o ± 0.1 % O <sub>2</sub> , el mayor	-	36
Potenciométrico	Fuji Electric	0–2	-	< 8	-	-	82
Amperométrico	Mettler Toledo	0–5	5	< 20	≤ ± 1 % o ± 5 ppmv O <sub>2</sub> , el mayor	-	83
Electro-galvánico	Dräger	0–25	1000	< 20	≤ ± 3 % lectura	NO <sub>2</sub> , NO, CO, CO <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> S	84
Paramagnético	Systech	0–100	100	< 6	-	NO, NO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O	43
Paramagnético	Siemens	0–0.5	50	-	-	NO, NO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, NH <sub>3</sub>	48
Paramagnético	MICHELL instruments	0–0.5	-	< 15	± 0.02 % O <sub>2</sub>	-	46
TDLS	Siemens	0–100	200	< 3	-	No	49
TDLS	Mettler Toledo	0–100	100	< 2	± 2 % lectura o ± 100 ppmv O <sub>2</sub> , el mayor	No	85
Luminiscente	Presens	0–0.02	0.5	< 3	± 1 % o ± 2 ppmv O <sub>2</sub> , el mayor	Vapores orgánicos y Cl <sub>2</sub>	86
Luminiscente	OceanOptics	0–10	10	< 30	< 5 % de la lectura		87
Luminiscente	PyroScience	0–10	20	< 10	± 0.002 % O <sub>2</sub> al 1 %	-	88
Luminiscente	SpectraSensors	0–0.02	0.5	-	± 2 ppmv O <sub>2</sub> o ± 5 %, el mayor	-	89
Luminiscente	Centec	0–4.2	-	< 10	± 0.002 % O <sub>2</sub>	-	90

<sup>a</sup> Límite de detección. <sup>b</sup> Tiempo de respuesta (t<sub>90</sub>) para un cambio de señal del 90 %.

### 3. Cuantificación de H<sub>2</sub>S

El H<sub>2</sub>S es un gas incoloro con un olor característico a huevos podridos, detectable olfativamente desde 0.01 ppmv hasta 100 ppmv, concentración a partir de la cual el H<sub>2</sub>S genera parálisis olfativa. Es un gas tóxico que, en concentraciones superiores a 10 ppmv, produce irritación ocular y del sistema respiratorio derivando en insuficiencia respiratoria, edema pulmonar y conjuntivitis. Por encima de 500 ppmv provoca además inconsciencia y puede ser mortal si la exposición supera las 4 horas. A partir de las 1000 ppmv, la inhalación de H<sub>2</sub>S es fatal provocando la muerte de forma instantánea en tan solo 1 o 2 respiros.<sup>91</sup> Dado que el H<sub>2</sub>S es un gas más pesado que el aire, se acumula en zonas bajas y es extremadamente peligroso en lugares confinados. Por último, es un gas extremadamente inflamable, formando mezclas explosivas con aire, y corrosivo, produciendo daños en motores, tuberías, depósitos y otras estructuras metálicas.

Este gas se encuentra de forma natural en el petróleo crudo, el gas natural o gases volcánicos, y está presente en diversos ámbitos industriales como refinerías de petróleo y gas natural, plantas productoras de biogás, fábricas de papel, industrias de procesamiento de alimentos o curtidurías. Al formarse en el proceso de degradación de la materia orgánica, suele ser habitual su presencia en vertederos, estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), en granjas donde se almacena estiércol o alcantarillas.<sup>92</sup>

Dadas las características del H<sub>2</sub>S, es innegable la necesidad de monitorizar este gas en aquellos ámbitos donde sus niveles pueden suponer un riesgo. En el caso del biometano se ha establecido un límite máximo de 5 mg m<sup>-3</sup> (~ 3.5 ppmv) para asegurar la calidad energética, la seguridad de los consumidores, la protección de las instalaciones y del medio ambiente.<sup>21,22</sup>

En la actualidad existen diversas técnicas que permiten cuantificar el H<sub>2</sub>S.<sup>93</sup> A continuación, se exponen de manera detallada las más relevantes. En la parte final de esta sección se muestran dos tablas, una que recopila los sistemas de cuantificación de H<sub>2</sub>S descritos en la bibliografía (Tabla 6) y una segunda que recoge una compilación de los sensores de H<sub>2</sub>S comerciales (Tabla 7).

#### 3.1. Cromatografía en fase gaseosa

Del mismo modo que el O<sub>2</sub>, la cromatografía de gases es el método de referencia para la determinación de H<sub>2</sub>S en biometano (EN ISO 19739).<sup>94</sup> Los componentes del biometano se separan en una columna cromatográfica en el interior de un horno y se cuantifica el contenido de éstos mediante un gas de calibración. En la cuantificación de H<sub>2</sub>S pueden emplearse desde un

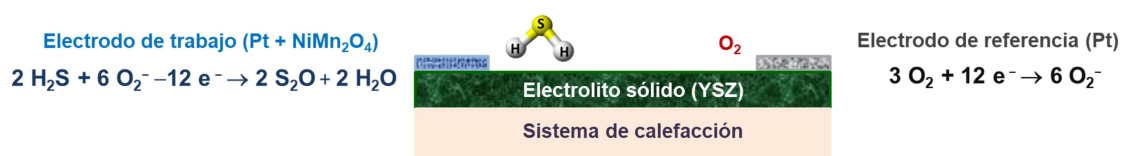
detector de conductividad térmica (TCD), hasta detectores más específicos de los compuestos de azufre, como el detector quimioluminiscente de azufre (SCD) o el detector fotométrico de llama (FPD), que transforman el H<sub>2</sub>S a SO<sub>2</sub> y a S<sub>2</sub>, respectivamente, y mediante un tubo fotomultiplicador detectan la emisión de luz del SO<sub>2</sub> y del S<sub>2</sub>, a una determinada longitud de onda (350 y 394 nm, respectivamente).<sup>95-96</sup> Los detectores SCD y FPD proporcionan unos límites de detección muy inferiores al TCD, del orden de las pocas ppbv en comparación con las pocas ppmv del TCD (Tabla 7).

La cuantificación de H<sub>2</sub>S mediante cromatografía de gases es un método de elevada sensibilidad si se acopla a un detector adecuado, y de elevada selectividad, con tiempos de respuesta relativamente cortos (80–600 s). Sin embargo, suelen ser equipos muy costosos que requieren un mantenimiento frecuente y un manejo por parte de personal cualificado. El empleo de detectores más específicos como el SCD o FPD, encarece el equipo, requiere de instalaciones adicionales como líneas de gases (H<sub>2</sub>) e incrementa el mantenimiento y la complejidad de manejo del mismo.

## 3.2. Sensores electroquímicos

### 3.2.1. Potenciométricos

Los sensores potenciométricos de H<sub>2</sub>S constan de un electrolito sólido constituido por un material conductor iónico, sobre el que se depositan dos electrodos: un electrodo de trabajo y un electrodo de referencia. La determinación de H<sub>2</sub>S se basa en la medida de la diferencia de potencial que se genera entre ambos electrodos como consecuencia de la reacción electroquímica del H<sub>2</sub>S que tiene lugar en el electrodo de trabajo (Figura 14).



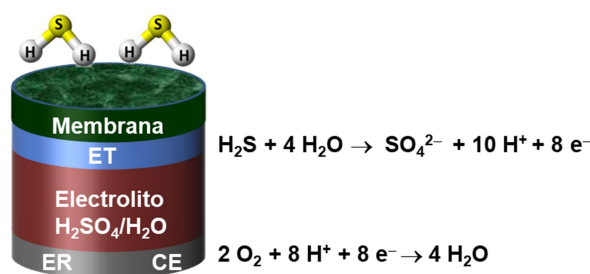
**Figura 14.** Esquema de un sensor potenciométrico de H<sub>2</sub>S que emplea, como electrolito sólido, YSZ y como electrodo de trabajo, un hilo de Pt con NiMn<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

En la fabricación de sensores potenciométricos se han utilizado como electrolito sólido materiales conductores como el NASICON (superconductor iónico de sodio) o el YSZ (ZrO<sub>2</sub> dopado Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Como electrodo de trabajo se han empleado hilos de Pt o de Au recubiertos con distintos tipos de óxido como WO<sub>3</sub>, SnO<sub>2</sub>, NiMn<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, NiCr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CoCr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CoMn<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CoCrMnO<sub>4</sub>, CoCr<sub>1.2</sub>Mn<sub>0.8</sub>O<sub>4</sub>, CoCr<sub>1.4</sub>Mn<sub>0.6</sub>O<sub>4</sub> o La<sub>2</sub>NiO<sub>4</sub>, y como electrodos de referencia, se han empleado hilos de Pt o de Au.<sup>97-101</sup>

Los sensores potenciométricos de  $\text{H}_2\text{S}$  son muy sensibles, con bajos LOD (20 ppbv) y tiempos de respuesta y recuperación cortos (8–300 s). Sin embargo, para lograr esa sensibilidad y esos tiempos de respuesta estos sistemas deben operar a alta temperatura (250–500 °C), donde los procesos de adsorción y desorción del  $\text{H}_2\text{S}$ , así como las reacciones en la superficie, están favorecidos. Estos sensores responden a otros gases como el  $\text{NO}_2$  o  $\text{SO}_2$ , si bien con mucha menor sensibilidad (unas 8–10 veces menos) que al  $\text{H}_2\text{S}$ , pero que pueden suponer una interferencia a bajas concentraciones de  $\text{H}_2\text{S}$ . Por último, la aplicación *in situ* de estos sensores no se ha llevado a cabo aún, por lo que su aplicabilidad real no ha sido demostrada.

### 3.2.2. Amperométricos

Los sensores amperométricos de  $\text{H}_2\text{S}$  constan de una membrana permeable al gas, un electrolito y tres electrodos: un electrodo de trabajo (ET), un contraelectrodo (CE) y un electrodo de referencia (ER) (Figura 15). El  $\text{H}_2\text{S}$  atraviesa la membrana del sensor por difusión y se oxida en la superficie del electrodo de trabajo. Como consecuencia de la reacción electroquímica del  $\text{H}_2\text{S}$ , se genera una corriente eléctrica entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo, que es directamente proporcional a la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$ . El electrodo de referencia permite evitar el mal funcionamiento del sensor debido a la variación del potencial del electrodo de trabajo, que debería ser constante.<sup>102</sup>



**Figura 15.** Esquema de un sensor amperométrico de  $\text{H}_2\text{S}$  convencional.

El electrolito líquido más convencional es una disolución acuosa concentrada de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Sin embargo, ésta tiende a evaporarse incluso a temperatura ambiente, provocando el fallo del sensor y su composición se ve afectada por la variación de la humedad en el ambiente, provocando cambios en la respuesta del sensor y, por tanto, la necesidad de realizar calibraciones de forma frecuente.

Tratando de solventar los inconvenientes asociados al electrolito líquido, se han desarrollado sensores amperométricos de  $\text{H}_2\text{S}$  sustituyendo la disolución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  por un electrolito polimérico sólido, como el Nafión<sup>®</sup>. No obstante, la conductividad iónica de este polímero varía con la humedad, provocando cambios en la respuesta del sensor. Realizando un

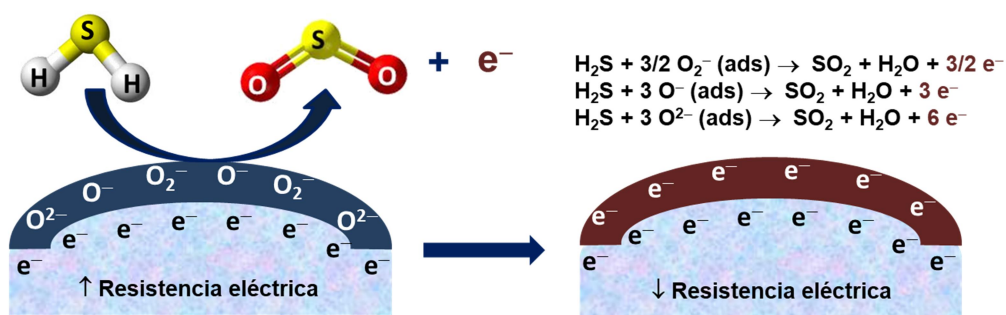


pre-tratamiento de la membrana de Nafión® con un ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o HClO<sub>4</sub>), se consigue mejorar la estabilidad en las medidas.<sup>103-106</sup> Recientemente se están realizando estudios empleando líquidos iónicos a temperatura ambiente (RTILs) como electrolitos sólidos, ya que presentan una excelente estabilidad térmica y química, permitiendo al sensor operar en condiciones extremas de presión y temperatura, manteniéndose estables y sin riesgo de evaporación.<sup>107-108</sup>

Los sensores amperométricos son compactos, de bajo coste, de fácil manejo y ofrecen una buena sensibilidad con tiempos de respuesta cortos (~ 15 s). Sin embargo, requieren de un mantenimiento frecuente y costoso (calibración, sustitución de la membrana, sustitución del electrodo), especialmente cuando operan en condiciones extremas de presión y temperatura y en condiciones de baja humedad.

### 3.3. Sensores basados en óxidos metálicos semiconductores

Son sensores quimio-resistivos que constan de una película constituida por un óxido metálico semiconductor cuyas propiedades eléctricas (resistencia o conductividad eléctrica) varían en presencia del H<sub>2</sub>S, debido a la reacción que tiene lugar entre el analito y la superficie del óxido metálico. En ausencia de H<sub>2</sub>S, el O<sub>2</sub> adsorbido en la superficie del óxido metálico como especie cargada (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sup>-</sup> u O<sup>2-</sup>), provoca un empobrecimiento de electrones en la película semiconductora originando una alta resistencia eléctrica. Al pasar la muestra de gas, el H<sub>2</sub>S reacciona con el oxígeno adsorbido, liberando los electrones capturados previamente por el O<sub>2</sub> a la superficie del óxido metálico y disminuyendo la resistencia eléctrica (Figura 16).



**Figura 16.** Esquema del mecanismo de detección del sensor de H<sub>2</sub>S basado en óxidos metálicos semiconductores.

Se han estudiado una variedad de óxidos metálicos tales como el SnO<sub>2</sub>, WO<sub>3</sub>, BaTiO<sub>3</sub>, ZnO o In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, siendo el más utilizado el SnO<sub>2</sub>.<sup>93</sup> La modificación del SnO<sub>2</sub> con otros óxidos como el CeO<sub>2</sub>, CuO, NiO o con metales como Fe, Ag, Au, Pt, así como el empleo de nanomateriales con una mayor área superficial específica, ha permitido mejorar la respuesta del sensor en términos de sensibilidad, alcanzando límites de detección (LOD) en el orden de las ppbv (10 ppbv) y

tiempos de respuesta más cortos (pocos segundos).<sup>109-112</sup> La mayoría de estos sensores suelen operar a alta temperatura (100–400 °C), con el fin de ofrecer una alta sensibilidad y tiempos de respuesta cortos. Recientemente se han desarrollado sensores de este tipo que operan a temperatura ambiente (~ 25 °C), llegando a alcanzar LOD en el orden de las ppbv, tiempos de respuesta cortos (2 s) y tiempos de recuperación relativamente cortos (292 s).<sup>113-115</sup>

Por lo general, no se han llevado a cabo aplicaciones prácticas *in situ* de este tipo de sensores, salvo en pruebas de laboratorio. Así ocurre con un sensor de H<sub>2</sub>S basado en nanocristales de SnO<sub>2</sub>, con el que se realizaron medidas en laboratorio en un intervalo de concentraciones de 0.5 a 30 ppmv (LOD 0.5 ppmv), con un tiempo de respuesta menor que 224 s y un tiempo de recuperación de unos 300 s. No se llevó a cabo una aplicación “en campo” pero se presenta como un sensor prometedor para su aplicación en la monitorización en tiempo real de trazas de H<sub>2</sub>S en el biogás.<sup>116</sup>

En general, son sensores de pequeño tamaño, de fácil manejo y bajo coste que ofrecen una elevada sensibilidad con bajos LOD (0.01–20 ppmv) y tiempos de respuesta relativamente rápidos. Sin embargo, son poco selectivos, el comportamiento del sensor se ve fuertemente afectado por la humedad, la mayoría operan a altas temperaturas y suelen presentar tiempos de recuperación relativamente largos, incluso de horas en algunos casos.

### 3.4. Sensores basados en polímeros conductores (CPSs)

Son sensores quimio-resistivos constituidos por un polímero selectivo de H<sub>2</sub>S y un material conductor, que actúa como medio para la conducción eléctrica. En presencia de H<sub>2</sub>S, el polímero se expande por reacción con el analito, aumentando la resistencia eléctrica del material. A diferencia de la mayoría de los sensores basados en óxidos metálicos, éstos operan a temperatura ambiente.

En el desarrollo de sensores de H<sub>2</sub>S, la polianilina (PAni) ha sido ampliamente utilizada. La incorporación de metales a este polímero conductor ha permitido mejorar la selectividad y la sensibilidad de los sensores de H<sub>2</sub>S.<sup>117</sup> Se han descrito sensores basados en PAni funcionalizada con nanopartículas de Au, Ag, Pt o Cu, capaces de detectar niveles de H<sub>2</sub>S del orden de 0.1 ppbv con unos tiempos de respuesta relativamente cortos (< 300 s).<sup>118-121</sup>

Los CPSs son sensores con una alta sensibilidad, permitiendo detectar trazas de H<sub>2</sub>S (ppbv-ppmv), de bajo precio y fácil fabricación. La principal desventaja de estos sensores es su alta sensibilidad a la humedad que, en caso de no mantenerse constante, provoca una deriva de la señal del sensor.

### 3.5. Dispositivos ópticos

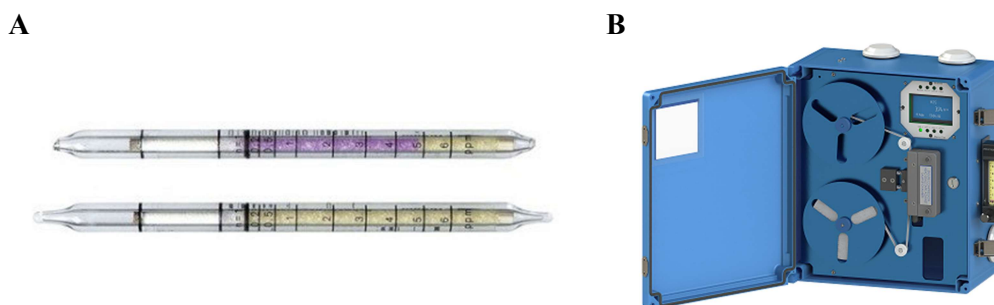
#### 3.5.1. Colorimétricos

Los detectores colorimétricos de H<sub>2</sub>S son normalmente *dosímetros*<sup>§</sup> que se basan en el cambio de color que tiene lugar como resultado de la reacción del H<sub>2</sub>S con un reactivo (Figura 17).<sup>122-124</sup> Los más comunes se basan en la reacción de precipitación del H<sub>2</sub>S con metales pesados como el Pb, Cu o el Hg. Se han diseñado tubos de detección de gases cuyo interior está cubierto por el agente precipitante. Cuando el H<sub>2</sub>S accede al tubo precipita, formando una sal insoluble con el metal (PbS, CuS, HgS). La concentración de H<sub>2</sub>S es proporcional a la longitud del tubo que ha experimentado el cambio de color.<sup>125-127</sup>

Basados en la misma reacción de precipitación se han diseñado cintas recubiertas de acetato de plomo que, en presencia de H<sub>2</sub>S, forma un precipitado de PbS que proporciona una coloración marrón oscura (R 4).



La concentración de H<sub>2</sub>S se obtiene a partir de la reflexión de la luz producida por el tramo de cinta donde ha tenido lugar la reacción. Para ello se emplea una fuente de luz y un fotodetector. En cada medida de H<sub>2</sub>S, la cinta de acetato de plomo gira, por lo que cada nueva medida se realiza en un tramo nuevo, lo que evita la realización de calibraciones frecuentes. Una vez finalizada la cinta, ésta debe ser sustituida (60–90 días). Estos equipos permiten a su vez la determinación del azufre total, mediante un paso previo de conversión de todos los compuestos de azufre en H<sub>2</sub>S, en un pirolizador con H<sub>2</sub> a 1000 °C.



**Figura 17.** Detectores colorimétricos de H<sub>2</sub>S comerciales. A) Tubos detectores de H<sub>2</sub>S.<sup>128</sup> B) Detector basado en una cinta de acetato de plomo.<sup>129</sup>

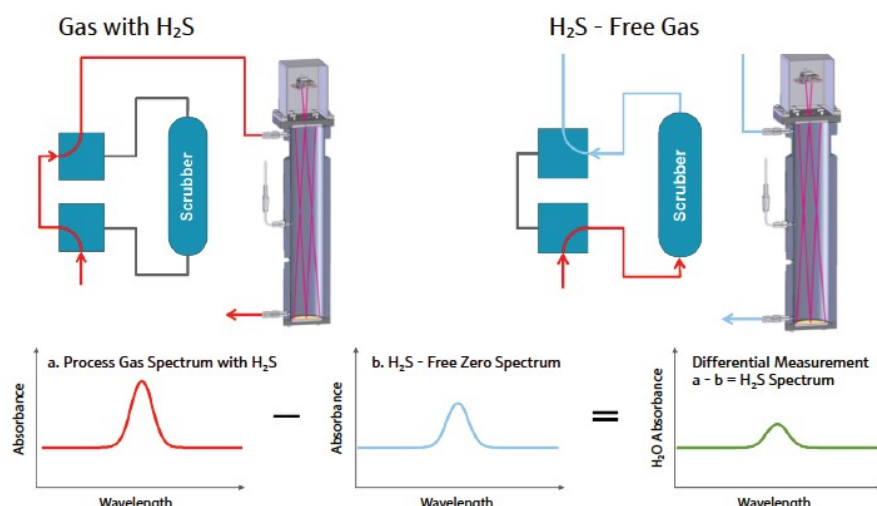
<sup>§</sup> La diferencia entre *dosímetro* y un auténtico *sensor* reside en la naturaleza irreversible o reversible del principio de medida, independientemente de que sea regenerable o no (O.S. Wolfbeis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 9864–9865).

Tanto los tubos de detección como la cinta de acetato de plomo son diseños disponibles comercialmente, fáciles de manejar, muy sensibles, con bajos LOD (5 ppbv) y muy selectivos. Sin embargo, no dejan de ser dosímetros, dada la irreversibilidad de la reacción de precipitación que tiene lugar. A diferencia de los tubos detectores que son de bajo coste y no pueden operar en continuo, los detectores de acetato de plomo pueden emplearse para la monitorización de  $\text{H}_2\text{S}$  en continuo gracias al giro de la cinta. Sin embargo, son equipos relativamente caros y más aún si incorporan el módulo pirolizador para la determinación total de azufre, el cual requiere de la instalación de una línea de  $\text{H}_2$ . Además, se contaminan fácilmente por cualquier fuga de  $\text{H}_2\text{S}$  a la atmósfera, dejando inutilizable la cinta sensible.

### 3.5.2. Espectroscopía de diodo láser sintonizable (TDLS)

Los sensores basados en la espectroscopia TDLS determinan la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  a través del espectro de absorción infrarroja del  $\text{H}_2\text{S}$ . Constan de una cámara de medida, donde se hace pasar el gas de muestra, un láser sintonizable que irradia luz en una estrecha banda del infrarrojo cercano a través de la línea de absorción del  $\text{H}_2\text{S}$  y un detector que recoge la luz procedente de la muestra. El  $\text{H}_2\text{S}$  en la celda de medida, es irradiado por el láser en una estrecha banda de longitudes de onda característica del analito. Parte de la luz procedente del láser es absorbida por el  $\text{H}_2\text{S}$ , reduciendo la intensidad de la luz incidente en proporción directa a la concentración de analito. El resto de luz es reflejada y dirigida al detector donde su intensidad es cuantificada. La diferencia de intensidad entre la luz que procede del láser y la luz que llega al detector permite cuantificar la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$ .

Los sensores TDLS permiten determinar el  $\text{H}_2\text{S}$  en continuo y de forma rápida ( $< 10$  s), aunque con una sensibilidad menor que otras técnicas, alcanzando LOD de 20 ppmv. Aunque a priori sea una técnica selectiva, algunos componentes presentes en el gas pueden absorber parte de la luz, proporcionando falsos valores de concentración de  $\text{H}_2\text{S}$ . La empresa SpectraSensors<sup>130</sup> ha desarrollado un sistema de espectroscopia diferencial que permite corregir la señal de la absorción de fondo, para poder detectar niveles más bajos de  $\text{H}_2\text{S}$ , alcanzando un LOD de 0.5 ppmv. En cada medida, además de obtener un espectro de absorción IR de la muestra de gas, el dispositivo obtiene un espectro de absorción IR de la matriz de la muestra eliminando previamente el  $\text{H}_2\text{S}$ , para lo cual se hace pasar el gas de muestra por un filtro de nanopartículas de Cu donde queda retenido como  $\text{CuS}$  (“scrubber”). La concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  se determina por diferencia entre ambos espectros (Figura 18).

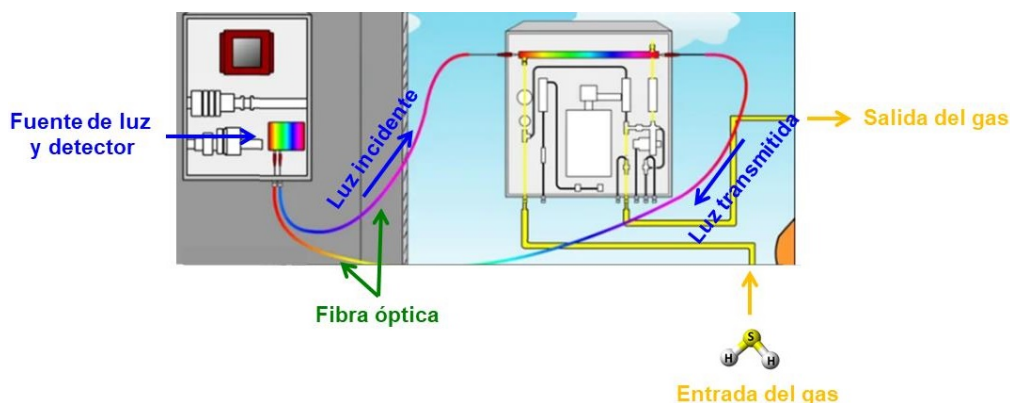


**Figura 18.** Espectroscopía diferencial TDLS por sustracción de espectros (SpectraSensors).<sup>130</sup>

Los sensores TDLS son relativamente caros, aunque apenas requieren mantenimiento. El dispositivo de determinación de  $\text{H}_2\text{S}$  por espectroscopía diferencial requiere la sustitución del filtro depurador de  $\text{H}_2\text{S}$  al menos cada 6 meses.

### 3.5.3. Espectroscopia de absorción UV-VIS

Los sensores basados en la espectroscopia de absorción UV-VIS determinan la concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  a partir del espectro de absorción UV-VIS de este gas. Estos dispositivos constan de una fuente de luz (lámpara que emite luz en un intervalo de longitudes de onda amplio, 200–800 nm), que viaja a través de una fibra óptica e incide sobre el gas de muestra que se hace pasar a través de una celda. El empleo de filtros o monocromadores permite seleccionar la longitud de onda de la banda de absorción característica del  $\text{H}_2\text{S}$ . Parte de la luz incidente es absorbida por el  $\text{H}_2\text{S}$ , mientras que la luz transmitida viaja a través de la fibra óptica llegando al detector (Figura 19). La concentración de  $\text{H}_2\text{S}$  es directamente proporcional a la absorción de luz por la muestra (ley de Lambert-Beer).



**Figura 19.** Determinación de  $\text{H}_2\text{S}$  por espectroscopia de absorción UV-VIS.<sup>131</sup>

Esta técnica permite monitorizar el  $\text{H}_2\text{S}$  en continuo y en tiempo real ( $t_{90} < 10$  s). Presenta una sensibilidad inferior a otros métodos, con un LOD de 1 ppmv y una selectividad limitada, ya que otros componentes presentes en la muestra, como  $\text{NH}_3$ , COS, benceno, tolueno o xileno, entre otros, absorben parte de la luz incidente debido al solapamiento de los espectros de absorción del  $\text{H}_2\text{S}$  y de los interferentes. Además, la respuesta del sensor puede verse afectada por las fluctuaciones y el envejecimiento de la lámpara y del detector. Para evitarlo es imprescindible llevar a cabo diariamente el registro de un espectro de absorción del blanco, que permite corregir estos posibles cambios.

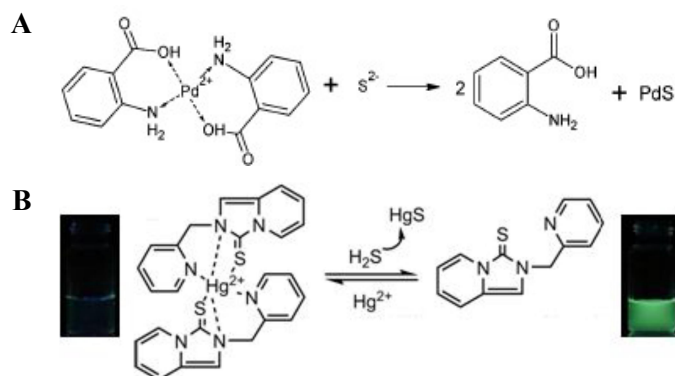
#### 3.5.4. Espectroscopia de emisión molecular

Los sensores luminiscentes de  $\text{H}_2\text{S}$  se basan en la modificación de la intensidad y/o el tiempo de vida de luminiscencia de determinadas moléculas intermediarias, denominadas *indicadores* luminiscentes, que alcanzan un estado electrónicamente excitado tras una previa absorción de radiación electromagnética de energía determinada. Constan de una membrana sensora, que se obtiene por inmovilización del indicador luminiscente en una matriz sólida (filtro de celulosa, polímeros, o MOFs, materiales porosos constituidos por compuestos metal-orgánicos), una fuente de excitación que emite luz a la longitud de onda de absorción de la molécula o material luminiscente, una celda de medida a través de la cual se hace pasar el gas de muestra y un detector, que cuantifica la luz de emisión de la molécula indicadora.

El fluorescein acetato de mercurio (FMA) y la tionina constituyen dos de las moléculas indicadoras más ampliamente estudiadas en la detección y cuantificación del  $\text{H}_2\text{S}$ . Se han empleado para la cuantificación de  $\text{H}_2\text{S}$  inmovilizadas en distintos soportes sólidos (gel de sílice, etilcelulosa o papel de filtro).<sup>132-137</sup> Sin embargo, ambas sondas responden irreversiblemente al analito.

En los últimos años se han diseñado multitud de sondas fluorescentes que, por reacción irreversible con el  $\text{H}_2\text{S}$ , se activa o se desactiva su luminiscencia, denominándose sondas “*turn-on*” y “*turn-off*”, respectivamente. La interacción selectiva de estas moléculas indicadoras con el  $\text{H}_2\text{S}$  puede ser por reacción de óxido-reducción, por ataque nucleofílico o por precipitación del sulfuro con un metal.<sup>138</sup> La modificación de la estructura de la molécula indicadora por reacción con el  $\text{H}_2\text{S}$ , provoca un cambio en la intensidad de luminiscencia. Aunque la mayoría de estas sondas se han empleado en la detección del  $\text{H}_2\text{S}$  en muestras biológicas, algunas de ellas se han empleado para la cuantificación de  $\text{H}_2\text{S}$  gas. Los sistemas de cuantificación de  $\text{H}_2\text{S}$  gas se basan fundamentalmente en la estrategia de precipitación del sulfuro con un metal. Para ello se emplean como sondas fluorescentes compuestos orgánicos de  $\text{Pd(II)}$ ,  $\text{Hg(II)}$ ,  $\text{Zn(II)}$  o  $\text{Cd(II)}$ . El  $\text{H}_2\text{S}$  presente en la muestra reacciona rápidamente con el metal para formar un sulfuro metálico

estable (PdS, HgS, ZnS o CdS), produciéndose la desactivación de la luminiscencia de la sonda (Figura 20).<sup>135,139-142</sup>



**Figura 20.** Sondas fluorescentes de H<sub>2</sub>S basadas en la precipitación de sulfuros metálicos.<sup>139,140</sup>

Estas sondas fluorescentes de H<sub>2</sub>S son muy sensibles, siendo capaces de detectar concentraciones de H<sub>2</sub>S del orden de las pocas ppbv, de forma selectiva y con tiempos de repuesta relativamente cortos (30–600 s). Son fáciles de fabricar y de manejar, y no requieren mantenimiento. Sin embargo, su aplicación para la monitorización en continuo está limitada dada la irreversibilidad de la reacción de detección de H<sub>2</sub>S.

**Tabla 6.** Recopilación bibliográfica de los sistemas de cuantificación de H<sub>2</sub>S en fase gas.

Tipo	Material sensor	Intervalo de medida (ppmv)	LOD (ppmv) <sup>a</sup>	$t_{90}$ (s) <sup>b</sup>	$t_{-90}$ (s) <sup>b</sup>	Interferencias	Temperatura de trabajo	Ref.
Potenciométrico	NASICON + Pr <sub>6</sub> O <sub>11</sub> /SnO <sub>2</sub>	0–50	-	8	30	SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	300	98
Potenciométrico	YSZ + NiMn <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	0–2	0.05	300	275	SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	500	99
Potenciométrico	NASICON + CoCr <sub>2-x</sub> Mn <sub>x</sub> O <sub>4</sub>	0–20	0.1	100	100	SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	250	100
Potenciométrico	YSZ + La <sub>2</sub> NiO <sub>4</sub>	0–2	0.02	72	150	SO <sub>2</sub>	500–700	101
Amperométrico	Nafión	0–100	0.1	9	9	SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO	RT	104
Amperométrico	Nafión	0–200	0.1	10	16	SO <sub>2</sub>	RT	106
Amperométrico	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0–11	-	300	150	-	RT	102
Quimio-resistivo	Nanohilos de SnO <sub>2</sub>	0–100	0.043	2	292	NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub>	22 °C	114
Quimio-resistivo	SnO <sub>2</sub> :NiO	0–50	0.1	< 480	> 3600	CH <sub>4</sub> , CO, NH <sub>3</sub> , NO	RT	115
Quimio-resistivo	Nanocristales de SnO <sub>2</sub>	0–30	0.5	224	300	CH <sub>4</sub> , CO, NH <sub>3</sub> , SO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	125 °C	116
Quimio-resistivo	Nanopartículas de WO <sub>3</sub>	0–1	0.02	-	-	-	150–250 °C	143
Quimio-resistivo	CPSs	0.001–0.100	0.0001	120	300	-	RT	118
Quimio-resistivo	CPSs	0–25	1	360	-	Despreciable (CO, NO, NO <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub> )	RT	121
Colorimétrico	Complejo de Cu(II)	0–200	-	600–10800	Irreversible	No	RT	122
Colorimétrico	Varios indicadores	0–50	0.05	> 900	Irreversible	No	RT	124
Colorimétrico	Tubos detectores de gas	0–0.6	0.019	1800	Irreversible	No	RT	126
Luminiscente	Complejo de Pd(II)/filtro de celulosa	0.008–0.110	0.002	600	Irreversible	Despreciable (NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> )	RT	139
Luminiscente	FMA/filtro de celulosa	0.016–0.067	0.003	30	Irreversible	-	RT	135
Luminiscente	Complejo de Hg(II)	0–4	0.7	60	Irreversible	Despreciable (CO, CO <sub>2</sub> , NO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub> )	RT	140

<sup>a</sup> Límite de detección. <sup>b</sup> Tiempo de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) para un cambio de señal del 90 %. RT: Temperatura ambiente.



**Tabla 7.** Analizadores comerciales de H<sub>2</sub>S en fase gas.

Tipo de analizador	Fabricante	Intervalo de medida (ppmv)	LOD (ppmv) <sup>a</sup>	t <sub>90</sub> (s) <sup>b</sup>	Exactitud	Interferencias	Ref.
GC-TCD	Agilent	0–10	1	< 120	-	No	144
GC-TCD	Siemens	0–10000	5	< 100	0.1 %	No	145
GC-SCD	Agilent	0–5	0.02	-	-	No	146
GC-FPD	Agilent	0–5	0.05	-	-	No	147
GC-FPD	Thermo-G.A.S	0–0.8	0.0005	< 80	-	No	148
GC-FPD	Chromatotec	0–5	0.004	< 600	-	No	149
Electroquímico	Geotech	0–50 0–10000	-	≤ 30	1.5 %	-	150
Electroquímico	Oldham	0–500	1	35–50	3 %	-	151
Electroquímico	Gastech	0–200	1	40	-	CO, H <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> y Cl <sub>2</sub>	152
Electroquímico	App-Tek	0–50	0.1	1	< 4 %	CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO	153
Colorimétrico	Envent Engineering	0–0.05 0–5 0–100	-	≤ 20	1.5 %	No	154
Colorimétrico	Diteco	0–0.05 0–600	-	≤ 30	-	No	155
Colorimétrico	Honeywell	0–30	1.1	< 10	-	No	156
Absorción UV-VIS	Applied Analytics	0–10 0–100	1	< 10	± 1 ppmv o ± 1 %, el mayor	-	157
TDLS	SpectraSensors	0–10 0–100	0.5	< 5	± 0.5 ppmv a 4 ppmv	-	158
TDLS	Mettler Toledo	0–500000	20	-	2 %	-	159
TDLS	Yokowaga	0–50000	-	-	-	-	160

<sup>a</sup> Límite de detección. <sup>b</sup> Tiempo de respuesta (t<sub>90</sub>) para un cambio de señal del 90 %.

## 4. Cuantificación de $\text{NH}_3$

El  $\text{NH}_3$  es un gas incoloro y de olor penetrante ( $> 50$  ppmv), que se encuentra en la naturaleza en el aire, agua y suelo, siendo esencial para animales y plantas pues es la fuente de nitrógeno para los seres vivos. Las emisiones de  $\text{NH}_3$  pueden tener un origen natural (suelos de vegetación natural y océanos) o ser resultado de la actividad humana. La mayor parte del  $\text{NH}_3$  procede de la actividad agrícola y ganadera, debido al uso de fertilizantes y a la descomposición microbiana de la materia orgánica en el sector agrario (estiércol, excreciones animales y restos de animales y plantas muertos). El  $\text{NH}_3$  también puede proceder de la quema de biomasa, la combustión de combustibles fósiles y las emisiones de los vehículos, así como de actividades industriales como la producción de fertilizantes sintéticos o la fabricación de los sistemas de refrigeración, entre otros.

El  $\text{NH}_3$  es una sustancia corrosiva que, a altas concentraciones, supone un riesgo para la salud humana, causando irritación de ojos, nariz, garganta y piel, llegando a producir quemaduras en zonas donde se produce un contacto directo con este gas. Las exposiciones prolongadas al  $\text{NH}_3$ , pueden producir daños en el pulmón y en el hígado, y puede llegar incluso a ser letal.<sup>161</sup> La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) y la Agencia Europea para la Seguridad y la Salud en el Trabajo (EU-OSHA) establecen un límite máximo de exposición al  $\text{NH}_3$  durante una jornada de 8 horas de 25 y 20 ppmv, respectivamente.<sup>162</sup>

El  $\text{NH}_3$  a elevadas concentraciones también supone un riesgo para el medio ambiente debido a su impacto en la calidad del agua, aire y suelos. El  $\text{NH}_3$  se combina con otras sustancias ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$ ) y forma sales de amonio, jugando un papel fundamental en la formación de materia particulada atmosférica (partículas de distinta composición y tamaño con  $d_p < 2.5\text{--}10\ \mu\text{m}$ , como  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ). En un periodo de 1–15 días, las sales de amonio se transportan y se depositan contribuyendo a la acidificación de suelos, la degradación de bosques y la eutrofización de ecosistemas acuáticos.<sup>163</sup> Además, como resultado de la combustión de combustibles o la quema de biomasa, se liberan óxidos de nitrógeno a la atmósfera que contribuyen al deterioro de la capa de ozono, al incremento del efecto invernadero y al cambio climático.

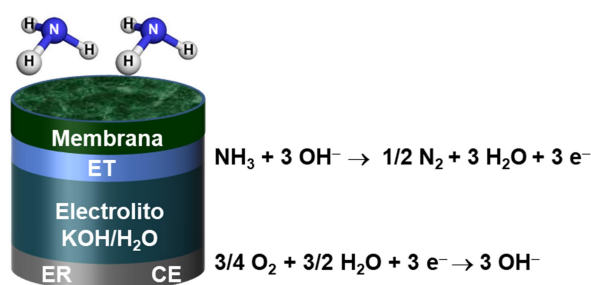
Por último, el  $\text{NH}_3$ , al ser un gas corrosivo, puede dañar equipos e instalaciones como compresores, tanques de almacenamiento, tuberías o motores.

La monitorización de la concentración de  $\text{NH}_3$  se ha convertido en esencial en lugares e instalaciones donde este gas supone un riesgo para asegurar la salud humana y para garantizar la calidad del medioambiente y de los gases industriales. En el caso del biometano se ha establecido un límite máximo de  $10\ \text{mg m}^{-3}$  ( $\sim 13$  ppmv). Actualmente existen varias técnicas

analíticas que permiten cuantificar la concentración de NH<sub>3</sub>. A continuación, se exponen las más relevantes para el análisis de NH<sub>3</sub> en fase gas. En la parte final se muestran dos tablas que recogen los principales sensores, tanto de la bibliografía (Tabla 8), como los disponibles comercialmente (Tabla 9).

#### 4.1. Sensores electroquímicos

En los sensores electroquímicos, la oxidación del NH<sub>3</sub> en el electrodo de trabajo origina una variación de la señal eléctrica, cuya magnitud es proporcional a la concentración de analito (Figura 21). Estos sensores constan de un electrodo de trabajo (ET), donde tiene lugar la oxidación del analito, un contraelectrodo (CE) donde tiene lugar la correspondiente reacción de reducción, un electrodo de referencia (ER) que mantiene el voltaje del electrodo de trabajo constante, un electrolito que facilita la reacción y es el encargado de transportar las cargas entre los dos electrodos, y una membrana permeable que permite el paso del analito y evita la salida del electrolito.



**Figura 21.** Esquema de un sensor amperométrico de NH<sub>3</sub> convencional.

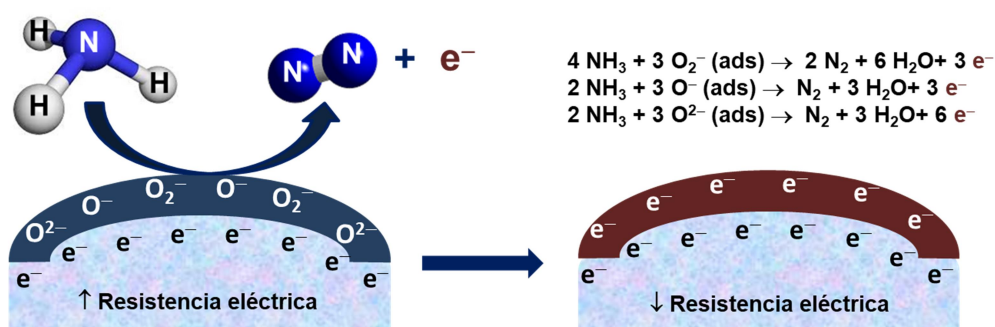
El electrolito más comúnmente empleado es una disolución acuosa alcalina (KOH, CsOH).<sup>164-166</sup> Sin embargo, su concentración depende fuertemente de la humedad del ambiente, provocando cambios en la respuesta del sensor, y tiende a evaporarse produciendo el fallo del sensor.

Recientemente, se han desarrollado sensores electroquímicos de NH<sub>3</sub> sustituyendo los electrolitos acuosos por líquidos iónicos a temperatura ambiente (RTILs), dada su excelente estabilidad térmica y química ([C<sub>2</sub>mim][NTf<sub>2</sub>], [C<sub>4</sub>mim][NTf<sub>2</sub>], [C<sub>4</sub>mim][OTf], [C<sub>4</sub>mim][BF<sub>4</sub>] and [C<sub>4</sub>mim][PF<sub>6</sub>], donde [C<sub>2</sub>mim]<sup>+</sup> es 1-etil-3-metilimidazolio, [C<sub>4</sub>mim]<sup>+</sup> es 1-butil-3-metilimidazolio, [NTf<sub>2</sub>]<sup>-</sup> es bis(trifluorometanosulfonil)imida y [OTf]<sup>-</sup> es trifluorometanosulfonato, [BF<sub>4</sub>]<sup>-</sup> es tetrafluoroborato y [PF<sub>6</sub>]<sup>-</sup> es hexafluorofosfato).<sup>108,167-170</sup> La sensibilidad de estos sensores se ha ido mejorando logrando LOD de 1 ppmv.

Los sensores electroquímicos son dispositivos sencillos, compactos y de escaso coste, que permiten detectar bajos niveles de  $\text{NH}_3$  (1 ppmv). Para asegurar un funcionamiento adecuado, es necesario llevar a cabo un mantenimiento frecuente que incluye la calibración del mismo y la sustitución y limpieza de membranas y electrodos.

## 4.2. Sensores basados en óxidos metálicos semiconductores

Son sensores constituidos por un material semiconductor cuya resistencia eléctrica se ve modificada por la interacción del  $\text{NH}_3$  con la superficie del sensor. En ausencia de analito, el  $\text{O}_2$  se adsorbe químicamente en la superficie del material semiconductor, capturando electrones y aumentando la resistencia eléctrica del material. En presencia del gas de muestra, el  $\text{NH}_3$  interacciona con el  $\text{O}_2$  adsorbido en la superficie, oxidándose a  $\text{N}_2$  y liberando electrones. Estos electrones liberados de la reacción redox producen una disminución de la resistencia eléctrica del material semiconductor. Una vez el gas de muestra deja de pasar, la resistencia eléctrica del material semiconductor se restablece como resultado de la re-adsorción del  $\text{O}_2$  (Figura 22).



**Figura 22.** Esquema del mecanismo de detección del sensor de  $\text{NH}_3$  basado en óxidos metálicos semiconductores.

En el desarrollo de sensores quimio-resistivos de  $\text{NH}_3$ , se han empleado una variedad de óxidos metálicos como  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CuO}$  o  $\text{ZnO}$ .<sup>171-173</sup> Muchos de estos sensores operan a elevadas temperaturas ( $> 150^\circ\text{C}$ ), donde la respuesta del sensor es máxima. A bajas temperaturas el número de electrones generados en la superficie del material es inferior, por lo que el  $\text{O}_2$  interacciona en menor medida con la superficie del material, generando un número inferior de iones oxígeno que posteriormente puedan interaccionar con el  $\text{NH}_3$  y reduciendo la respuesta del sensor (sensibilidad). Además, las especies de  $\text{O}_2$  adsorbidas son más estables y más difíciles de desorber, aumentando los tiempos de respuesta y recuperación del sensor. La modificación del material semiconductor con metales nobles ( $\text{Au}$ ,  $\text{Pt}$ ,  $\text{Ni}$ ,  $\text{Pd}$ ,  $\text{Ga}$  o  $\text{Ag}$ ),<sup>174-176</sup> metales alcalinotérreos ( $\text{Mg}$ ,  $\text{Ca}$ ,  $\text{Sr}$ ,  $\text{Ba}$ ),<sup>177</sup> metales de transición ( $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ ,  $\text{Mn}$ ,  $\text{Co}$ )<sup>178-179</sup> o con otros óxidos metálicos ( $\text{CuO-ZnO}$  o  $\text{Cr}_2\text{O}_3\text{-ZnO}$ ),<sup>180-181</sup> ha permitido desarrollar sensores que operan a temperatura ambiente con tiempos de respuesta y recuperación cortos y una mejor

selectividad al analito. Los metales aceleran la reacción química del  $\text{NH}_3$  con la superficie del material, mejorando la respuesta del sensor y reduciendo los tiempos de respuesta y recuperación.

El principal inconveniente de estos sensores es su baja selectividad al  $\text{NH}_3$ , pues responden a otros gases como  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{SO}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ . Además, la respuesta y sensibilidad de estos sensores se ve afectada por los cambios de humedad en la muestra. La adsorción química del  $\text{O}_2$  está limitada por la adsorción de moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  en la superficie del material. En presencia de  $\text{H}_2\text{O}$ , el número de iones de oxígeno en la superficie del material es inferior, por lo que el  $\text{NH}_3$  interacciona menos con la superficie del material semiconductor, reduciéndose la respuesta del sensor.

### 4.3. Sensores basados en polímeros conductores (CPSs)

Los sensores CPSs emplean polímeros cuya conductividad eléctrica se ve modificada en presencia del  $\text{NH}_3$ . Los polímeros más ampliamente estudiados son el polipirrol (PPy) y la polianilina (PAni).<sup>182-186</sup> Los primeros sensores de  $\text{NH}_3$  basados en estos polímeros presentaban tiempos de respuesta y de recuperación relativamente largos, además de poca estabilidad química, experimentando una pérdida de sensibilidad al ser expuestos de manera prolongada al gas. Tratando de mejorar la estabilidad, sensibilidad y tiempo de respuesta se han desarrollado sensores de  $\text{NH}_3$  combinando los polímeros PPy y PAni con otros materiales, como óxidos metálicos ( $\text{ZnO}$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{V}_2\text{O}_5$ ),<sup>187-190</sup> otros polímeros,<sup>191-192</sup> materiales del carbono (grafito u óxido de grafito),<sup>193-195</sup> o la incorporación de moléculas orgánicas como ftalocianinas metálicas.<sup>196-197</sup>

Los CPSs son sensores de bajo coste y fácil preparación que, a diferencia de muchos de los sensores quimio-resistivos basados en óxidos metálicos, operan a temperatura ambiente. Presentan una elevada sensibilidad, alcanzando LOD del orden de las ppbv y tiempos de respuesta moderados ( $< 600$  s). Aunque se están realizando avances, estos sensores experimentan problemas de selectividad y estabilidad a largo plazo, lo que limita su aplicación.

### 4.4. Sensores catalíticos

La determinación de la concentración de  $\text{NH}_3$  se basa en la combustión catalítica de dicho gas en la superficie de unas perlas recubiertas de un catalizador, en las que se encuentra embebido un hilo de platino. Como resultado de la combustión del gas, aumenta la temperatura

de las perlas, produciendo un aumento de la resistencia del hilo de platino. El cambio producido en la resistencia es directamente proporcional a la concentración del gas.<sup>198</sup>

Para garantizar una adecuada combustión del gas y, por consiguiente, un correcto funcionamiento del sensor, estos dispositivos deben operar a elevada temperatura (500 °C), en presencia de al menos un 10 % de O<sub>2</sub> y evitar ambientes muy húmedos. La presencia de determinados componentes como el H<sub>2</sub>S produce el deterioro del sensor, al contaminar el catalizador e inhibir su acción catalítica. La incorporación de filtros físicos y químicos permite ralentizar este deterioro.

Los sensores catalíticos permiten monitorizar la presencia de NH<sub>3</sub> en aire (o en atmósferas que contengan O<sub>2</sub>) en concentraciones desde unas 600 ppmv hasta el límite inferior de inflamabilidad de dicho gas (mínima concentración del gas en aire necesaria para que la mezcla sea inflamable en presencia de una fuente de ignición; 15.4 % para el NH<sub>3</sub>). La selectividad de los sensores depende del metal catalítico empleado y de la temperatura de operación.

## 4.5. Dispositivos ópticos

### 4.5.1. Espectroscopía de diodo láser sintonizable (TDLS)

Los sensores basados en la TDLS determinan la concentración de NH<sub>3</sub> a partir del espectro de absorción infrarroja de la muestra. La radiación infrarroja incide sobre la muestra en la celda de medida. El analito de interés absorbe determinadas longitudes de onda de dicha radiación, características del mismo. El resto de luz es transmitida y cuantificada por un detector. La absorbancia cuantificada a una determinada longitud de onda (~ 1530 nm) permite determinar el contenido de NH<sub>3</sub> en la muestra.

Es un método de detección sensible con bajos LOD (0.2 ppmv), que permite cuantificar el NH<sub>3</sub> en un amplio intervalo de concentraciones con tiempos de respuesta cortos. A priori es una técnica muy específica. Sin embargo, la absorción de luz por determinados componentes de la muestra puede proporcionar falsas medidas. Son sensores relativamente caros, cuyo detector puede verse afectado por las fluctuaciones de temperatura y humedad.

### 4.5.2. Colorimétricos

Los detectores colorimétricos se basan en el cambio de color que experimenta un reactivo al interaccionar de manera específica con el NH<sub>3</sub>. Como reactivos se emplean indicadores de pH, como el azul de bromofenol, rojo de bromofenol, azul de bromotimol o verde de

bromocresol, entre otros, cuya coloración se ve modificada como consecuencia de la reacción ácido-base con el  $\text{NH}_3$ . Como ejemplo, el azul de bromofenol en ausencia de analito presenta una coloración amarilla, mientras que en presencia de  $\text{NH}_3$  adquiere una coloración azul.

Los detectores colorimétricos de  $\text{NH}_3$  comerciales son tubos detectores de gases constituidos por un relleno que contiene el indicador de pH. Cuando el gas entra en contacto con el interior del tubo, el  $\text{NH}_3$  interacciona con el reactivo y produce el cambio de color del relleno. La concentración de  $\text{NH}_3$  es proporcional a la longitud del tubo que ha experimentado el cambio de color (Figura 23). Comercialmente se pueden encontrar tubos detectores de  $\text{NH}_3$  con diferentes intervalos de medida, desde 0.2 ppmv hasta las 1500 ppmv, con tiempos de respuesta de 1 a 2 min.<sup>199</sup>



**Figura 23.** Tubos detectores de  $\text{NH}_3$ , basados en el cambio de color del azul de bromofenol.<sup>199</sup>

En la bibliografía se encuentran numerosos ejemplos de sensores colorimétricos basados también en indicadores de pH inmovilizados en distintos soportes (etilcelulosa, gel de sílice porosa, poli(uretano) o el poli(vinilbutiral)). La concentración de  $\text{NH}_3$  se obtiene a partir de la determinación directa del color (valores RGB)<sup>200</sup> o a través de los cambios en la absorción UV-VIS del indicador. Los indicadores de pH más empleados en estos sensores son el azul de bromofenol,<sup>201</sup> la púrpura de bromocresol,<sup>202-204</sup> el azul de bromotimol,<sup>205-206</sup> y el verde de bromocresol.<sup>207</sup>

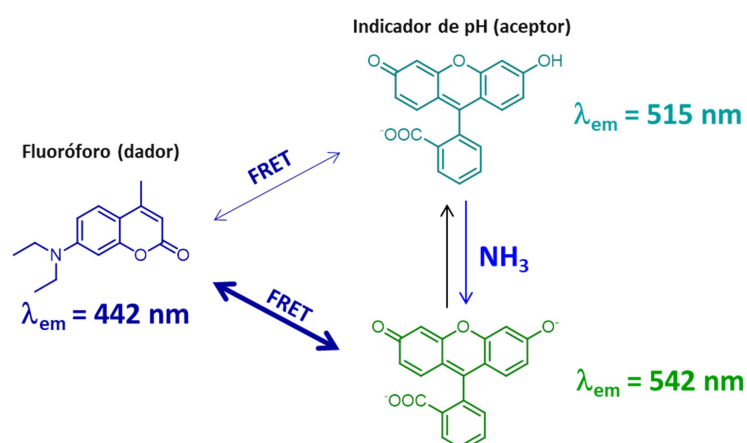
Los detectores colorimétricos de  $\text{NH}_3$  son muy sensibles y proporcionan LOD muy bajos, incluso del orden de las pptv. Son más selectivos que otros sensores como los electroquímicos o los quimio-resistivos. Sin embargo, están basados en moléculas indicadoras de poca estabilidad, lo que limita su aplicación en la monitorización de  $\text{NH}_3$ .

#### 4.5.3. Espectroscopía de emisión molecular

Los sensores luminiscentes se basan en el cambio que se produce en la intensidad y/o tiempo de vida de emisión de una molécula indicadora en presencia del analito. Constan de una membrana sensora constituida por la molécula indicadora luminiscente inmovilizada en un soporte sólido (etilcelulosa, gel de sílice, poli(etileno), PMMA), o estructuras tipo MOFs (material sólido poroso constituido por compuestos metal-orgánicos). La mayoría de los sensores luminiscentes de  $\text{NH}_3$  se basan en la transferencia de energía resonante de Förster (FRET) que tiene lugar desde una molécula fluorescente (dador) a una molécula indicadora de

pH (aceptor), como el verde de bromocresol,<sup>208</sup> la fluoresceína,<sup>162,209</sup> o el rodizonato de sodio.<sup>210</sup> La variación en la concentración del  $\text{NH}_3$  produce un cambio en el espectro de absorción de la molécula indicadora de pH. Como consecuencia de ello, se produce un cambio en el grado de solapamiento del espectro de absorción del aceptor con el espectro de emisión del dador, con la consiguiente modificación de la intensidad y tiempo de vida de luminiscencia de ambos luminóforos. De este modo, la concentración de  $\text{NH}_3$  se obtiene a partir de la intensidad o tiempo de vida de luminiscencia de uno de los fluoróforos. Como ejemplo, Widmer et al,<sup>209</sup> describen un sensor luminiscente de  $\text{NH}_3$  que emplea la fluoresceína como molécula aceptora y la cumarina como molécula dadora. En presencia de  $\text{NH}_3$  aumenta el solapamiento entre el espectro de emisión del dador y el espectro de absorción del aceptor produciéndose el aumento en la intensidad de emisión de la fluoresceína, con la consiguiente disminución de la intensidad de luminiscencia de la cumarina (Figura 24).

La principal desventaja de estos sensores es la poca estabilidad de las moléculas fluorescentes empleadas, lo que limita su aplicación. La incorporación de membranas de mayor espesor ha permitido mejorar la estabilidad de estas moléculas, pero a costa de incrementar notablemente los tiempos de respuesta y recuperación.



**Figura 24.** Sensor luminiscente de  $\text{NH}_3$  basado en la transferencia de energía FRET entre la cumarina y la fluoresceína.<sup>209</sup>

Por otro lado, en el desarrollo de este tipo de sensores, también se han empleado complejos de Europio(III).<sup>211-212</sup> Sin embargo, estos detectores requieren de una etapa de regeneración que se lleva a cabo a alta temperatura (90 °C), lo que limita su aplicación en la monitorización de NH<sub>3</sub> en continuo y a tiempo real.



**Tabla 8.** Recopilación bibliográfica de los sistemas de cuantificación de NH<sub>3</sub> en fase gas.

Tipo	Material sensible	Intervalo de medida (ppmv)	LOD (ppmv) <sup>a</sup>	$t_{90}$ (s) <sup>b</sup>	$t_{-90}$ (s) <sup>b</sup>	Interferencias	Temperatura de trabajo	Ref.
Electroquímico	Pt-Ir/KOH	0–200	50	120–300	-	-	RT	165
Electroquímico	Pt/KOH	0–12	-	< 1080	< 1548	-	RT	213
Electroquímico	GC/RTIL	0–1000	48	-	-	-	RT	167
Electroquímico	Pt/RTIL	0–200	1	10	-	-	RT	169
Electroquímico	Pt/RTIL	0–25	1	8	7	H <sub>2</sub> , CO, NO, H <sub>2</sub> S	RT	170
Quimio-resistivo	ZnO	0–800	1	< 48	< 10	NO <sub>x</sub>	300 °C	171
	SnO <sub>2</sub>			< 22	< 12	H <sub>2</sub> , CO, H <sub>2</sub> S		
	In <sub>2</sub> O <sub>3</sub>			< 18	< 15	NO <sub>x</sub>		
Quimio-resistivo	Ni-Co hydroxide/Oxide	0–10	2	< 44	< 20	-	RT	173
Quimio-resistivo	Au/MoO <sub>3</sub> /WO <sub>3</sub>	0–50	1	~ 216	~ 240	NO	400–500 °C	174
Quimio-resistivo	Pd/SnO <sub>2</sub> /RGO	0–300	5	420	3000	-	25 °C	176
Quimio-resistivo	Sr/SnO <sub>2</sub>	0–2000	10	< 16	-	NO, CO, H <sub>2</sub>	25 °C	177
Quimio-resistivo	Zn/NiO	0–150	5	< 20	< 60	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH, CHCl <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub> O	27 °C	178
Quimio-resistivo	Mn/ZnO	0–100	-	4	10	CO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	150 °C	179
Quimio-resistivo	CPSs PPy	0–100	0.01	1	55–60	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O, C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> , CHCl <sub>3</sub> , C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	RT	182
Quimio-resistivo	CPSs Si/PAni	0–50	1	< 12	< 70	-	RT	183
Quimio-resistivo	CPSs PAni	0–100	0.0025	~ 100	~ 100	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH, CO <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub> O, C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	RT	186
Quimio-resistivo	CPSs PPy/V <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0–200	1.4	11	82	-	25 °C	190
Quimio-resistivo	CPSs PAni/PE-co-GMA	0–25	0.1	75	-	-	RT	191
Quimio-resistivo	CPSs PSSA/PAni	0–3.65	0.1	600	1800	-	RT	192
Quimio-resistivo	CPSs PPy/TiO <sub>2</sub> /grafeno	0–100	1	36	16	-	25 °C	195

<sup>a</sup> Límite de detección. <sup>b</sup> Tiempo de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) para un cambio de señal del 90 %. RT: Temperatura ambiente.

Tabla 8 (continuación)

Tipo	Material sensible	Intervalo de medida (ppmv)	LOD (ppmv) <sup>a</sup>	$t_{90}$ (s) <sup>b</sup>	$t_{-90}$ (s) <sup>b</sup>	Interferencias	Temperatura de trabajo	Ref .
Colorimétrico	Nueve indicadores de pH	0–10	0.3	120	Desechable	-	RT	200
Colorimétrico	Azul de bromofenol	0–1100	3	38	840	-	RT	201
Colorimétrico	Púrpura de bromocresol	0–85	-	< 180	-	-	RT	202
Colorimétrico	Púrpura de bromocresol	0–10000	300	564	5	-	RT	203
Colorimétrico	Púrpura de bromocresol	0–5	0.013	60	-	-	RT	204
Colorimétrico	Azul de bromotimol	0.001–1	0.001	1	90	-	RT	205
Colorimétrico	Azul de bromotimol	$10^{-6}$ –0.1	$10^{-6}$	1	30	Gases alcalinos	RT	206
Colorimétrico	Tres indicadores de pH	0–100	10	300 ( $t_{80}$ )	18	-	RT	207
Luminiscente	Verde de bromocresol	0–175	2	60	150	No (O <sub>2</sub> (20 %) y CO <sub>2</sub> (6 %))	RT	208
Luminiscente	Fluoresceína	0–200	0.110	480–960	900–2340		RT	162
Luminiscente	Fluoresceína	0–40000	10	1080–8580	-		RT	209
Luminiscente	Rodizonato de sodio	0–300	3	5	-	-	RT	210
Luminiscente	Eu <sup>3+</sup> MOF	0–500	2.4	240	< 600	-	RT	211
Luminiscente	Eu <sup>3+</sup> MOF	0–1500	26.2	300	> 300	-	RT	212

<sup>a</sup> Límite de detección. <sup>b</sup> Tiempo de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) para un cambio de señal del 90 %. RT: Temperatura ambiente.

**Tabla 9.** Analizadores comerciales de NH<sub>3</sub> en fase gas.

Tipo de analizador	Fabricante	Intervalo de medida (ppmv)	LOD (ppmv) <sup>a</sup>	t <sub>90</sub> (s) <sup>b</sup>	Exactitud	Interferencias	Ref.
GC-SGS	ENVIN	0–100	0.050	240	-	No	214
GC-NCD	Agilent	0–0.4	Ppbv	120	-	No	215
Electroquímico	Dräger	0–300	3	< 10	± 3 %	H <sub>2</sub> S, NO <sub>2</sub> , NO	84
Electroquímico	Gastech	0–100	1		± 5 %		216
Electroquímico	Environmental sensors	0–200	0.1	< 60	-	H <sub>2</sub> S	217
Electroquímico	3M Oldham	0–100	1	< 30	± 3 %	-	218
Electroquímico	App-Tek	0–100	1	-	± 10 %	-	153
Electroquímico	NOVA	0–200	1	55	± 1 %	-	219
Electroquímico	DD Scientific	0–100	1	< 40	-	H <sub>2</sub> S, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	220
Catalítico	SGX Sensortech	0–15000	600	-	-	-	221
Catalítico	CTI Engineering	0–10000	-	30	± 2 %	-	222
Colorimétrico	Dräger	0–5	0.2	100–600	Irreversible	Gases ácidos	199
Colorimétrico	Gastec	0–78	0.2	90	Irreversible	CO <sub>2</sub> , aminas e hidrazina	223
Quimioluminiscente	Teledyne	0–0.05	0.001	40	-	-	224
Quimioluminiscente	Thermo Scientific	0–20	0.001	120	-	-	225
Absorción UV-VIS	Applied Analytics	0–1000	-	1–5	± 2 %	SO <sub>2</sub>	226
TDLS	Photonics innovations	-	5	0.5–4	± 2,5 % o ± 1 ppmv, el mayor	-	227
TDLS	Mettler Toledo	0–10000	1	4	± 2 % o ± 1 ppmv, el mayor	-	228
TDLS	Yokowaga	0–5	sub-ppmv	5–20	± 2 %	-	229
TDLS	ABB	0–5	0.2	5	-	-	230

<sup>a</sup> Límite de detección. <sup>b</sup> Tiempo de respuesta (t<sub>90</sub>) para un cambio de señal del 90 %

## 5. Sensores químicos de fibra óptica

### 5.1. Sensor: definición, características y clasificación

Un sensor es un dispositivo capaz de detectar y cuantificar de forma reversible, en continuo, en tiempo real e *in situ* un parámetro físico (temperatura, presión, posición, movimiento,...) o químico (pH, O<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S,...).<sup>231</sup>

Estos dispositivos analíticos constan de tres partes fundamentales. Un **elemento de reconocimiento** del parámetro de interés o “terminal sensible”, que genera una señal primaria de tipo eléctrico, óptico, térmico o másico. Un **transductor** cuya función es transformar la señal recibida del terminal sensible en una señal analítica medible (hoy en día, eléctrica) y un **sistema electrónico** de amplificación y procesamiento de la señal que proporcione resultados en las unidades de interés (e.g. presión, concentración, pH).

Un sensor *ideal* debería cumplir las siguientes características:

- Ser compacto y de pequeño tamaño, para poder transportarse e instalarse para una monitorización *in situ*, incluso en lugares de difícil acceso.
- Mostrar una elevada sensibilidad y selectividad, respondiendo exclusivamente al parámetro de interés.
- Poseer una alta precisión y exactitud.
- Mostrar una excelente estabilidad, robustez y larga durabilidad, manteniendo sus propiedades analíticas.
- Ser económicamente asequible.
- Mostrar una respuesta rápida al parámetro de interés, proporcionando medidas en continuo y en tiempo real.
- Resultar fácil su instalación y requerir escaso mantenimiento (limpieza, calibración, sustitución de piezas).
- Operar automáticamente, evitando o minimizando la intervención de personal.

Los sensores pueden clasificarse atendiendo a diversos criterios. Según el parámetro medible el sensor puede ser físico, químico o bioquímico. O según el tipo de transductor empleado, el sensor puede ser eléctrico, electroquímico, óptico, térmico o piezoeléctrico.

## 5.2. Sensores ópticos

Los sensores ópticos emplean la radiación electromagnética para generar una señal analítica en el elemento transductor. La interacción de la luz con la muestra produce un cambio en un parámetro óptico (absorbancia, intensidad de emisión, tiempo de vida de luminiscencia, reflectancia, índice de refracción, etc.), el cual está relacionado con la concentración del analito de interés.

Los sensores ópticos presentan numerosas *ventajas* frente a otros sensores (eléctricos, electroquímicos, másicos,...).<sup>232</sup> No requieren de una señal de referencia como en el caso de los sensores potenciométricos aunque algunos pueden beneficiarse de ella. Pueden ser dispositivos muy sensibles y más selectivos que otros detectores. Gracias al empleo de fibras ópticas, permiten una monitorización sin contacto físico o a gran distancia en lugares de difícil acceso, espacios peligrosos como zonas de atmósfera explosiva (ATEX) o medios hostiles, en presencia de radiaciones electromagnéticas o ionizantes, en condiciones extremas de temperatura o en muestras de ácidos o bases, lo que amplía su aplicación a numerosos procesos industriales. Permiten el análisis multiparamétrico. Las fibras ópticas son capaces de transmitir simultáneamente distintas señales ópticas procedentes de distintos analitos que difieren unas de otras en longitud de onda, fase o polarización. Además, el empleo de terminales sensibles intercambiables, basados en el mismo parámetro de medida, permiten cuantificar distintos analitos empleando la misma instrumentación.

A pesar de sus múltiples ventajas, estos sensores también presentan algunos posibles *inconvenientes* a tener en cuenta en el desarrollo de los mismos: la posible interferencia de la luz ambiental;<sup>232</sup> el lavado o fotodegradación de los indicadores (en el caso de que los utilicen); elevados tiempos de respuesta y recuperación, debido a la membrana o matriz polimérica que ralentizan la accesibilidad del analito al indicador; irreversibilidad de la reacción entre analito e indicador (si procede); dependencia de la técnica con la optoelectrónica del equipo (fuente de luz, detector, fibra óptica), lo que origina variaciones en la señal óptica debido al envejecimiento de la fuente de radiación o del detector, fluctuaciones en la intensidad de la fuente de radiación, movimientos de la fibra óptica, o interferencias producidas por impurezas presentes en las fibras que originan fenómenos de absorción, emisión o dispersión Raman.

## 5.3. Sensores de fibra óptica

Los sensores de fibra óptica (FOS)<sup>233,234</sup> son sensores ópticos que emplean una fibra óptica como medio de propagación de la radiación electromagnética para transportar la luz hasta y

desde el terminal sensible. Estos sensores pueden clasificarse atendiendo a los siguientes criterios:

- **En función del papel que juega la fibra óptica:** extrínsecos o intrínsecos. En los sensores extrínsecos, la fibra óptica actúa exclusivamente como medio de propagación de la radiación electromagnética<sup>1</sup> mientras que, en los sensores intrínsecos, la fibra óptica es además el propio sensor. La interacción del analito con la superficie o el interior de la fibra origina un cambio en las propiedades de ésta (e.g. índice de refracción), con la consiguiente modificación en las características de transmisión de luz.
- **Según la naturaleza del elemento de reconocimiento:** sensores y biosensores. En el primer caso la fase sensible está constituida por moléculas químicas mientras que en los biosensores la fase de reconocimiento hace uso de biomoléculas o microorganismos (enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos o células).
- **Según la configuración del terminal sensible:** directos o indirectos. Los sensores *directos* (de 1ª generación, de terminal desnudo o pasivos) se basan en la detección de una propiedad óptica del analito, la cual es proporcional a su concentración. Por el contrario, en los sensores *indirectos* (“semiactivos”), el analito no posee una propiedad óptica intrínseca que pueda ser medida, por lo que se hace uso de una molécula indicadora cuyas propiedades ópticas varíen en función de la concentración de analito (sensores de “2ª generación”). Los sensores indirectos de 3ª generación además requieren de una biomolécula que, o bien es generada por el analito y detectada por el indicador, o bien interacciona con el analito haciendo que éste pueda detectarse.
- **En función de la configuración externa del sensor:** tipo *sonda*, donde la fibra óptica se introduce directamente en la muestra, o tipo *célula de flujo*, donde la muestra se hace pasar continuamente por una cámara donde se encuentra la fase sensora.
- **Según la propiedad óptica que se mida:** absorbancia, reflectancia, luminiscencia (fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia), índice de refracción, Raman, resonancia de plasmones superficiales (SPR), etc.

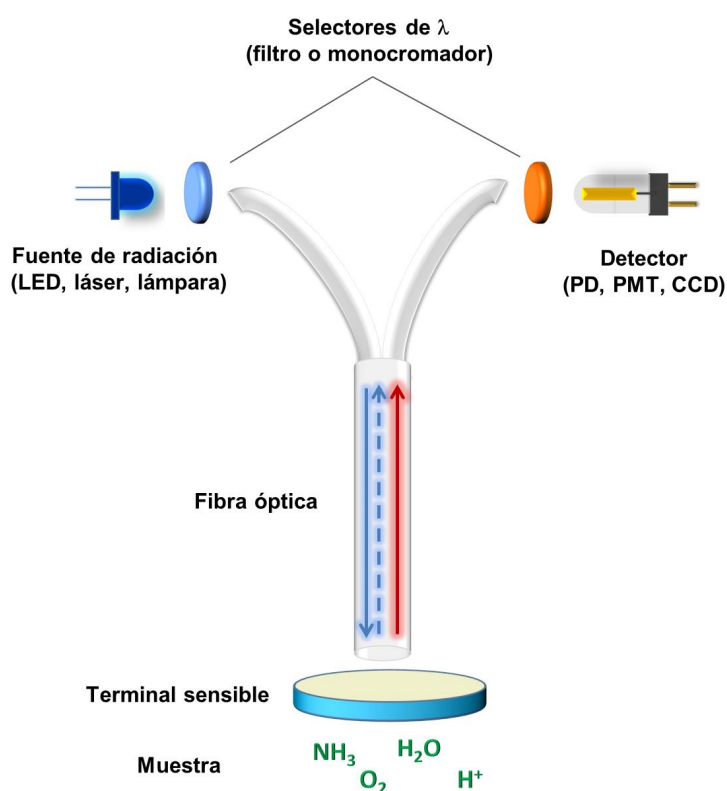
---

<sup>1</sup> De ahí que, frecuentemente, se denominen “sensores *sobre* fibra óptica”.

## 5.4. Sensores sobre fibra óptica

Los sensores sobre fibra óptica constan de un **terminal sensible**, constituido frecuentemente por un *indicador* inmovilizado en un *soporte* sólido, que experimenta un cambio en una propiedad óptica (color, luminiscencia...) cuya magnitud es proporcional a la concentración de la especie química cuantificable. El terminal sensible, frecuentemente situado en el extremo de una fibra óptica, se irradia con una **fuerza de luz** (lámpara, diodo láser o diodo emisor de luz (LED)), que interroga al indicador. La señal óptica procedente del terminal sensible se detecta mediante un **detector fotónico** (fotodiodo o fotomultiplicador; dispositivos de carga acoplada (CCD) o chip CMOS, entre otros). La fuente de luz y el detector fotónico se sitúan, frecuentemente, a distancia del terminal sensible gracias al empleo de la **fibra óptica**, a través de la cual se propaga, tanto la luz que interroga al indicador, como la luz de respuesta de éste al analito. Por último, suelen emplearse **selectores de longitudes de onda** (filtros de absorción, filtros de interferencia o monocromadores), que se pueden colocar tanto en la fuente de radiación como en el detector (Figura 25).

La elección de la instrumentación optoelectrónica necesaria dependerá del parámetro óptico que se monitorice, de la región del espectro electromagnético de interés, de la sensibilidad requerida, de la intensidad de la fuente de radiación requerida, del lugar donde se vaya a instalar el equipo y del coste, tamaño y autonomía del sensor, entre otros factores.



**Figura 25.** Esquema de los componentes básicos de un sensor químico sobre fibra óptica.

La calidad y prestaciones de los sensores basados *en un indicador óptico* dependen, además de la instrumentación antes mencionada, del **terminal sensible** empleado. Su desarrollo pasa por tres etapas: selección de una molécula indicadora apropiada, inmovilización de ésta sobre un material soporte adecuado y caracterización analítica del conjunto indicador-soporte fabricado.

En el caso de sensores basados en el fenómeno de la (foto)*luminiscencia*,<sup>235</sup> la **molécula indicadora** debe poseer una propiedad óptica sensible al analito de interés. Debe caracterizarse por un alto rendimiento cuántico de emisión, un largo tiempo de vida de luminiscencia y un gran desplazamiento de Stokes. Esto permite aumentar la sensibilidad del método, al mismo tiempo que simplifica y abarata la instrumentación. La molécula debe ser química y fotoquímicamente estable, de tal forma que no se degrade con el tiempo y sea lo más duradera posible. Por último, que ofrezca la posibilidad de ser fácilmente modificable mediante la introducción de grupos funcionales que permitan el anclaje del compuesto a un soporte adecuado, evitando el lavado del indicador óptico.

La molécula indicadora se embebe frecuentemente en una película delgada de material polimérico, orgánico o inorgánico, que actúa como **soporte del indicador**, proporcionando robustez al terminal sensible.<sup>68,236</sup> El soporte polimérico confiere selectividad al sensor siendo permeable al analito de interés e impidiendo el acceso de otras sustancias desactivadoras del indicador luminiscente. Además, debe evitar el lavado o arrastre de la molécula indicadora por la muestra líquida gracias a la posibilidad de unir *covalentemente* la misma al soporte. Idealmente, también impide la interferencia de la luz ambiental y aumenta la eficiencia de la desactivación por el analito del indicador fotoexcitado. El soporte influye notablemente en parámetros analíticos del sensor tales como la sensibilidad o el tiempo de respuesta. Los soportes sólidos pueden ser polímeros *hidrofóbicos* como la silicona, el poli(cloruro de vinilo) (PVC), el poli(metacrilato de metilo) (PMMA), el poli(tetrafluoroetileno) (PTFE), el poli(estireno) (PS), el poli(dimetilsiloxano) (PDMS) o la etilcelulosa (EC), entre otros muchos. Según la naturaleza de la muestra, pueden alternativamente emplearse polímeros *hidrofílicos* como la celulosa, los poli(acrilatos), las poli(acrilamidas), los poli(glicoles), el nylon, o los hidrogeles como el metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA), entre otros. Soportes ampliamente utilizados como el vidrio poroso y el gel de sílice, pueden ser tanto hidrofílicos como hidrofóbicos gracias a la posibilidad de modificar su superficie con distintos grupos funcionales. Por último, se emplean a veces materiales sol-gel síliceos cuyas propiedades (porosidad, polaridad) pueden variarse a voluntad gracias a la versatilidad del proceso de su obtención.

El **método de inmovilización** del indicador en el soporte puede ser físico, electrostático o covalente.<sup>237</sup> En el método *físico*, el indicador se inmoviliza por adsorción, inclusión o disolución en un soporte polimérico. Empleando el método *electrostático*, los indicadores



iónicos pueden inmovilizarse en soportes cuya superficie contiene grupos funcionales de carga opuesta, tales como grupos amino cuaternario o grupos sulfonato. Finalmente, con la inmovilización *covalente* se establece un enlace químico entre el indicador y el soporte, ideal para impedir el lavado del indicador en muestras líquidas.

## 5.5. Métodos ópticos de medidas de luminiscencia

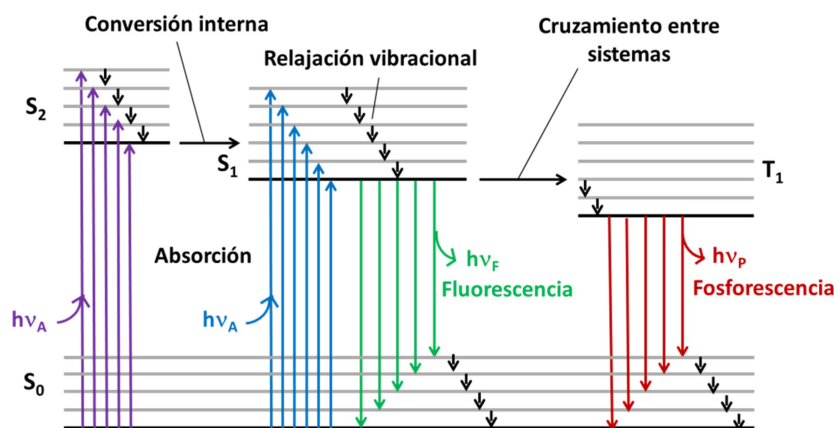
Los sensores ópticos proporcionan una respuesta óptica en función de la concentración de analito en la muestra. En función de la propiedad óptica medible éstos se clasifican en sensores de absorbancia, reflectancia, luminiscencia, dispersión Raman, onda evanescente, índice de refracción, etc. Entre ellos, los sensores químicos luminiscentes (fluorescentes y fosforescentes), ocupan en la actualidad un lugar destacado.<sup>238</sup> Esto se debe a su alta *sensibilidad* (comparados con los sensores basados en el cambio de color del indicador), combinada con la *selectividad* que las longitudes de onda de fotoexcitación y fotoemisión imparten al extraordinario fenómeno de la luminiscencia.

La luminiscencia es la emisión de luz desde el estado electrónico excitado de ciertas moléculas, que se alcanza por absorción de luz.<sup>239</sup> En función del modo de excitación se clasifica en fotoluminiscencia (por absorción de fotones), quimioluminiscencia (por reacción química) o bioluminiscencia (por una reacción biológica *in vivo*), entre otras. Cuando una molécula absorbe fotones (en menos de  $10^{-15}$  s), se excita a un nivel electrónico energéticamente superior ( $S_1$  o  $S_2$ ) y en concreto, dentro de éste, a distintos niveles vibracionales. Las moléculas rápidamente se relajan y alcanzan el nivel vibracional inferior del primer estado electrónico excitado ( $S_1$ ) por *relajación vibracional* ( $10^{-12}$ – $10^{-10}$  s), precedido de *conversión interna* ( $10^{-11}$ – $10^{-9}$  s), si el estado electrónico excitado es superior al  $S_1$ .

Desde el estado electrónico  $S_1$  la molécula también puede regresar al estado electrónico fundamental ( $S_0$ ) por *conversión interna* seguida de relajación vibracional. Sin embargo, en ciertas moléculas, lo puede hacer, en competencia con lo anterior, por emisión de un fotón de *fluorescencia* ( $S_1 \rightarrow S_0$ ), o puede tener lugar una transición horizontal no radiante a un estado electrónico con diferente multiplicidad de espín ( $T_1$ ), a través del proceso denominado *cruce intersistemas* ( $10^{-10}$ – $10^{-8}$  s). Este proceso de transición entre estados electrónicos de diferente multiplicidad de espín es poco común y está favorecido en moléculas con átomos de elevado número atómico, que contienen un gran número de electrones (“efecto del átomo pesado”). Desde el estado electrónico  $T_1$  puede tener lugar la lenta desactivación de la molécula por emisión de *fosforescencia* ( $T_1 \rightarrow S_0$ ). Mientras que la fluorescencia presenta tiempos de vida del orden de  $10^{-10}$ – $10^{-7}$  s, la fosforescencia se prolonga durante microsegundos ( $10^{-6}$ ), pudiendo

llegar a tiempos superiores a los segundos (10 s). En general, la fluorescencia es más intensa que la fosforescencia. Sin embargo, esta última tiene la ventaja de requerir una instrumentación más económica.

Dada la pérdida de energía por *relajación vibracional* que tiene lugar entre la absorción y emisión de luz, la luminiscencia siempre tiene lugar a longitudes de onda superiores a las de la luz de excitación. La diferencia existente entre ambas longitudes de onda se denomina *desplazamiento de Stokes*, siendo éste mayor en la fosforescencia que en la fluorescencia. En la Figura 26 se muestra el denominado “diagrama de Jablonski” (o diagrama de estados), que refleja los principales procesos que tienen lugar entre la absorción y la emisión de luz.



**Figura 26.** Diagrama de Jablonski simplificado con los procesos que tienen lugar entre la absorción y emisión de luz.

La emisión de fotones puede competir con otros procesos de desexcitación que tienen lugar en la misma escala de tiempo que la fluorescencia y la fosforescencia, como la transferencia electrónica intramolecular, los cambios conformacionales y las interacciones con otras moléculas (transferencia de energía, protón o electrón o formación de complejos en el estado excitado como excímeros y exciplejos).<sup>51</sup> Los excímeros son dímeros en el estado excitado formados por colisión de una molécula electrónicamente excitada con la misma molécula en estado fundamental ( $^1M^* + ^1M \rightarrow ^1(MM)^*$ ). Los exciplejos son también complejos en el estado excitado, pero formados por la colisión entre una molécula excitada y otra molécula distinta en su estado fundamental ( $^1M^* + N \rightarrow ^1(MN)^*$ ).

En los sensores luminiscentes el analito interacciona con la molécula indicadora a través de procesos de transferencia de energía, de protón o de electrón, produciendo una variación en la *intensidad* y/o *tiempo de vida* de la luminiscencia del indicador. Las características luminiscentes de una molécula indicadora vienen determinadas por su espectro de emisión y excitación, el rendimiento cuántico de emisión (fracción de moléculas excitadas que regresan al estado fundamental por emisión de luminiscencia, por fotón absorbido) y la intensidad y tiempo

de vida de luminiscencia. En estos sensores, la concentración de analito en una muestra se obtiene a partir de los valores de intensidad y/o el tiempo de vida de emisión.

A continuación, se describen los métodos ópticos basados en medidas de los parámetros de la luminiscencia: intensidad y tiempo de vida.

### 5.5.1. Intensidad de emisión

Para disoluciones diluidas, la potencia radiante (frecuentemente denominada simplemente “intensidad”)<sup>240</sup> de la luz emitida por una molécula luminiscente es proporcional a su concentración, relación que viene determinada por la siguiente ecuación:

$$P_L = P_0 \Phi_L \varepsilon_\lambda c l \kappa \quad (\text{E } 3)$$

siendo  $P_0$  la potencia radiante de la radiación de excitación,  $\Phi_L$  el rendimiento cuántico de emisión del luminóforo (fracción de fotones emitidos frente a fotones absorbidos por unidad de tiempo),  $\varepsilon_\lambda$  el coeficiente de absorción molar del luminóforo a la longitud de onda de excitación ( $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ),  $c$  la concentración de la molécula luminiscente ( $\text{mol dm}^{-3}$ ),  $l$  el paso óptico (cm) y  $\kappa$  un factor de proporcionalidad que depende de la disposición geométrica del instrumento.

Cuando la luminiscencia de una molécula se desactiva en presencia de un analito, tiene lugar una variación en la intensidad de dicha emisión. A partir de la intensidad de emisión en ausencia ( $I_0$ ) y en presencia de analito ( $I_Q$ ) es posible cuantificar la concentración de analito en la muestra. La desactivación de la emisión puede ser *estática* o *dinámica*.

En la desactivación estática la interacción analito-molécula indicadora tiene lugar en el estado fundamental (i.e., con anterioridad a la absorción del fotón) y, si forman un complejo (“aducto”) no luminiscente, la intensidad de emisión depende de la concentración de analito  $[Q]$  y de la constante de formación del complejo analito-indicador ( $K_A$ , E 4). En este caso, el tiempo de vida de emisión del indicador no se ve alterado, pues sólo se detecta el de la fracción libre del mismo.

$$\frac{I_0}{I_Q} = 1 + K_A[Q] \quad (\text{E } 4)$$

Cuando se produce desactivación dinámica, la interacción entre el analito y la molécula luminiscente tiene lugar durante el tiempo de vida del estado excitado del mismo, observando

una modificación tanto de la intensidad como del tiempo de vida de luminiscencia determinada por la denominada ecuación de Stern-Volmer (E 5),

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q] \quad (E 5)$$

donde  $k_q$  es la constante cinética de desactivación bimolecular,  $\tau_0$  el tiempo de vida de emisión de la molécula en ausencia de analito,  $\tau_Q$  el tiempo de vida de emisión de la molécula en presencia de analito,  $K_{SV}$  es la denominada constante de Stern-Volmer y  $[Q]$  es la concentración del desactivador (“quencher”) de la luminiscencia (analito).

A diferencia de las determinaciones de tiempo de vida de emisión, las medidas de intensidad de emisión presentan ciertos inconvenientes.<sup>238,241</sup> Éstas son sensibles a las fluctuaciones en la intensidad de luz de la fuente de radiación, al envejecimiento tanto del detector como de la fuente de luz, a los movimientos de la fibra óptica y a la eventual pérdida o fotodescomposición del indicador inmovilizado en el polímero, así como a fenómenos de autoatenuación y autoabsorción que se producen a concentraciones elevadas del luminóforo (efecto del filtro interno).

Las medidas “ratiométricas” de intensidad de luminiscencia permiten reducir el efecto de estos factores. Para ello se emplea una segunda molécula cuya luminiscencia, que tiene lugar a longitudes de onda diferentes a la emisión del indicador, no se ve afectada por el analito. La emisión de la segunda molécula, que actúa de referencia, puede emplearse para normalizar la señal de emisión del indicador, siempre que no experimente fotodegradación o pérdida en la muestra.

### 5.5.2. Tiempo de vida de emisión

El tiempo de vida de emisión se define como el tiempo promedio que un luminóforo permanece en el estado excitado. Cuando una muestra de moléculas luminiscentes se ilumina con un pulso de luz muy corto, se genera una población inicial de moléculas luminiscentes excitadas electrónicamente. Dicha población de moléculas en el estado excitado emisor disminuye a una velocidad  $\Gamma + k_{nr}$ , de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\frac{dn(t)}{dt} = -(\Gamma + k_{nr}) n(t) \quad (E 6)$$

donde  $n(t)$  es el número de moléculas que permanecen excitadas en un tiempo  $t$  tras la excitación,  $\Gamma$  es la constante de velocidad de desactivación radiante y  $k_{nr}$  es la constante de velocidad de desactivación no radiante. La emisión es un proceso aleatorio y cada molécula excitada tiene la misma probabilidad de emitir en un periodo de tiempo dado. Por tanto, la población de moléculas excitadas disminuye exponencialmente según la siguiente ecuación:

$$n(t) = n_0 \exp (-(\Gamma + k_{nr})t) \quad (E\ 7)$$

donde  $n_0$  es el número de moléculas excitadas inmediatamente después del pulso de excitación (i.e. a  $t = 0$ ).

Teniendo en cuenta que en los experimentos de luminiscencia no se observa el número de moléculas excitadas ( $n(t)$ ) sino la intensidad de emisión que proviene de las mismas ( $I(t)$ ) y que  $I(t)$  es directamente proporcional a  $n(t)$ , la E 7 se puede representar, alternativamente, como:

$$I(t) = I_0 \exp (-t/\tau) \quad (E\ 8)$$

en donde  $I_0$  es la intensidad de emisión a tiempo cero y  $\tau = 1/(\Gamma + k_{nr})$  es el tiempo de vida de emisión característico de una molécula luminiscente bajo unas condiciones experimentales determinadas. Se considera  $\tau$  al tiempo ( $t$ ) transcurrido desde que el luminóforo es excitado, al momento en que la población de moléculas excitadas se reduce a 1/e del número inicial de las mismas ( $n_0$ ) (Figura 27A).

El tiempo de vida de emisión *del indicador* es un parámetro que varía con la concentración del **analito**: cuanto mayor sea la concentración de analito más rápida es la “desexcitación” del indicador fotoexcitado (“*quenching*” de luminiscencia) y, consecuentemente, más corto es su tiempo de vida de emisión. Al tratarse de una magnitud intensiva, el tiempo de vida de emisión no depende de ninguno de los factores que afectan a las medidas de intensidad, lo que posibilita medidas ópticas más estables y robustas durante muy largos tiempos (> 12 meses) sin sustitución del extremo sensible que contiene el indicador luminiscente inmovilizado. Esto, unido a la mejora que la instrumentación basada en el tiempo de vida de emisión ha experimentado en los últimos tiempos, con el desarrollo de tecnología más asequible y miniaturizada, hace que los más modernos sensores químicos luminiscentes utilicen para su medida el tiempo de vida de emisión.

En la determinación del tiempo de vida de luminiscencia, los métodos de medida más habituales son dos: la detección con resolución temporal y la detección sensible a la fase.<sup>51,239</sup>

### 5.5.2.1. Resolución temporal

Las medidas de tiempo de vida de emisión con resolución temporal se basan en la medida (en tiempo real) de la extinción de la luminiscencia en función del tiempo. Para ello, la muestra se excita con un pulso corto de luz y se registra la disminución de la intensidad de emisión del luminóforo en función del tiempo (Figura 27A). De esta manera se obtiene el perfil cinético de desactivación de la luminiscencia de la molécula emisora, típicamente  $\log I(t)$  vs  $t$  (E 8). El tiempo de vida de emisión se puede obtener a partir de la pendiente de la representación gráfica del  $\log I(t)$  vs  $t$ , o a partir del tiempo transcurrido desde que el luminóforo es excitado al momento en que la intensidad de luminiscencia se reduce a  $1/e$  de la intensidad de emisión a  $t = 0$  ( $I_0$ ).

### 5.5.2.2. Detección sensible a la fase

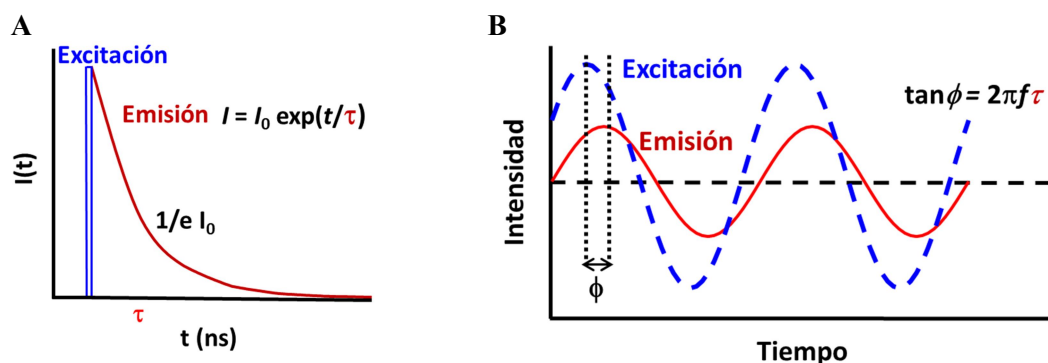
En la detección sensible a la fase, la muestra se excita con una fuente de luz continua cuya intensidad se modula sinusoidalmente a alta frecuencia. La emisión procedente de la muestra estará modulada a la misma frecuencia de la excitación y presentará el mismo periodo que la onda de excitación ( $\omega = 2\pi f$ , siendo  $f$  la frecuencia de modulación), pero estará desfasada en el tiempo respecto a ésta (Figura 27B). El tiempo de vida del luminóforo provoca un retardo en la luminiscencia respecto a la fuente de excitación, que se denomina desfase de luminiscencia y viene determinado por un ángulo de desfase ( $\phi$ ). Este desfase entre las ondas de excitación y emisión aumenta a medida que aumenta el tiempo de vida de emisión ( $\tau_\phi$ ) de la molécula luminiscente, estando ambos parámetros relacionados por la ecuación E 9.<sup>51</sup>

$$\tan\phi = 2\pi f\tau_\phi \quad (\text{E } 9)$$

La frecuencia de modulación a la que se trabaja debe adaptarse a cada molécula luminiscente. Para ello se suele calcular la frecuencia de modulación óptima para un determinado luminóforo a partir de su tiempo de vida de emisión según la ecuación E 10.

$$f = 1/(2\pi\tau) \quad (\text{E } 10)$$

Así, para tiempos de vida de emisión de 4, 2 y 1  $\mu\text{s}$  se obtendrían unas frecuencias de modulación óptimas de 39, 78 y 156 kHz, respectivamente. Estos valores proporcionan frecuencias de modulación a la que se debería trabajar en cada caso.



**Figura 27.** Determinación del tiempo de vida de emisión por detección con resolución temporal (A) y por detección sensible a la fase (B).

La detección sensible a la fase presenta una serie de ventajas que hacen de esta técnica una excelente alternativa para la fabricación de sensores luminiscentes basados en complejos de Ru(II), debido a los peculiares valores de sus tiempos de vida de emisión (fosforescencia “rápida”). A diferencia de la detección con resolución temporal, esta técnica se caracteriza por:

- i) una electrónica más simple y más barata;
- ii) un *software* más sencillo y un tiempo de cálculo inferior;
- iii) requiere menos muestras de la señal para obtener una información de calidad, lo que acelera la determinación del analito, siendo una ventaja en la determinación en tiempo real;
- iv) la señal en el dominio de la frecuencia es más fácil de capturar, pues se extiende a lo largo de un periodo de tiempo mucho más extenso;
- v) las ondas en el dominio de la frecuencia presentan menos ruido que las ondas en el dominio del tiempo, por la posibilidad de utilizar un mayor tiempo de integración de la señal.

## 6. Complejos luminiscentes de Ru(II)

Los complejos de Ru(II) con ligandos orgánicos quelatantes ocupan un lugar destacado en el desarrollo de sensores luminiscentes para aplicaciones medioambientales e industriales. Dichos indicadores poseen una serie de propiedades idóneas para el desarrollo de sensores ópticos:<sup>242</sup>

- **Absorción y emisión en el visible.** Los complejos de Ru(II) exhiben bandas de absorción (400–550 nm) y emisión (550–850 nm) en la región visible del espectro electromagnético, lo que permite el empleo de fuentes de luz de bajo coste.
- **Gran desplazamiento de Stokes** (> 150 nm). La luz de excitación (en el azul) y de emisión (roja) están muy separadas espectralmente, lo que abarata la instrumentación optoelectrónica necesaria. La discriminación de la luz de emisión de la luz dispersa de excitación se lleva a cabo, frecuentemente, empleando simples filtros ópticos en lugar de caros monocromadores.
- **Altos rendimientos cuánticos de emisión.** En los complejos de Ru(II) la fosforescencia a temperatura ambiente es más intensa que en otros indicadores orgánicos sin centros metálicos. Estos complejos metálicos, inmovilizados en un polímero apropiado, pueden alcanzar rendimientos cuánticos superiores al 50 % de los fotones adsorbidos.
- **Largos tiempos de vida de emisión** (0.1–6  $\mu$ s). La cinética de emisión es lo suficientemente lenta como para poder llevar a cabo la medida cinética del parámetro de interés sin recurrir a componentes electrónicos de elevado precio.
- **Estabilidad térmica y fotoquímica.** Los complejos de Ru(II) son indicadores extraordinariamente estables lo que incrementa la durabilidad de los sensores luminiscentes fabricados con estos indicadores.
- **Propiedades “sintonizables”.** En estos complejos, el metal puede coordinarse a una gran variedad de ligandos, dando lugar a un amplio abanico de complejos de Ru(II) con diferentes propiedades (foto)químicas, (foto)físicas y espectroscópicas. De este modo, a través de un proceso de “*ingeniería molecular*”, es posible diseñar indicadores luminiscentes “a medida” para diferentes analitos, debido a la rica fotoquímica que poseen, y/o proporcionar al indicador de grupos funcionales de unión al soporte polimérico, ajustando con precisión el método de inmovilización a las condiciones de aplicación del sensor.

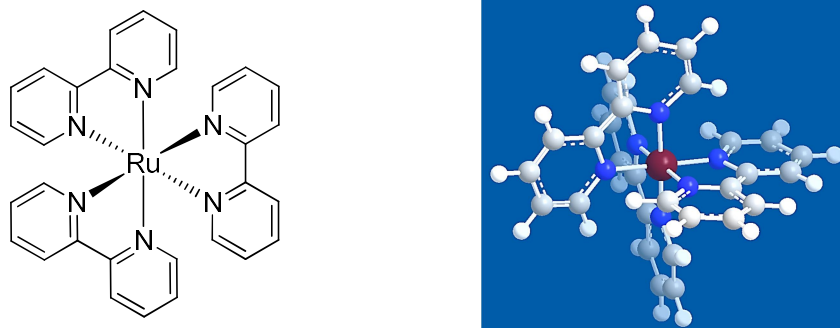


- **Propiedades espectroscópicas similares.** La familia de los complejos de Ru(II) con ligandos heterocíclicos quelatantes son indicadores con propiedades espectroscópicas lo suficientemente similares como para poder ser estimulados por la misma fuente de luz y cuya fotoemisión, que tiene lugar en la región espectral y con la cinética característica de dichas moléculas luminiscentes, pueda ser detectada por el mismo detector fotónico. Esto permite el uso de un *único* equipo optoelectrónico para la monitorización de un amplio número de parámetros químicos, mediante la conexión del mismo a diferentes terminales sensibles (*intercambiables*) a través de fibras ópticas.

El conjunto de estas propiedades únicas hace de los complejos de Ru(II) unos indicadores muy atractivos para el desarrollo de sensores luminiscentes para un amplio abanico de parámetros químicos (e.g. O<sub>2</sub>, temperatura, pH, CO<sub>2</sub>, Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, humedad, glucosa o demanda bioquímica de oxígeno (DBO)) con aplicaciones muy diversas en el ámbito medioambiental e industrial.<sup>73,78,243-252</sup>

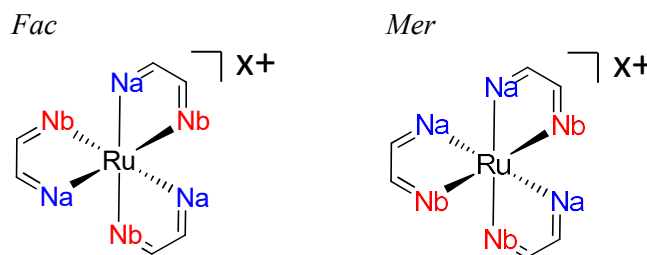
## 6.1. Propiedades estructurales

Los compuestos de coordinación de Ru(II) con ligandos heterocíclicos bidentados son complejos de simetría (pseudo)octaédrica (Figura 28).



**Figura 28.** Estructura (pseudo)octaédrica del tris(2,2'-bipiridina)rutenio(II), [Ru(bpy)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>.

En función de la disposición de los ligandos quelatantes, el complejo de Ru(II) muestra dos diastereoisómeros estables a su interconversión denominados *facial* y *meridional* los cuáles, a su vez, están constituidos por una pareja de enantiómeros ( $\Delta$  y  $\Lambda$ ). Mientras que en el isómero *facial* (*fac*) los tres ligandos idénticos ocupan la misma cara del octaedro, en el isómero *meridional* (*mer*) los tres ligandos idénticos nunca ocupan la misma cara (Figura 29). En condiciones favorables, la proporción relativa de los isómeros *mer* y *fac* se puede evaluar por RMN de Ru-99.<sup>253</sup>



**Figura 29.** Estereoisómeros *mer* y *fac* de un complejo metálico octaédrico con ligandos bidentados.

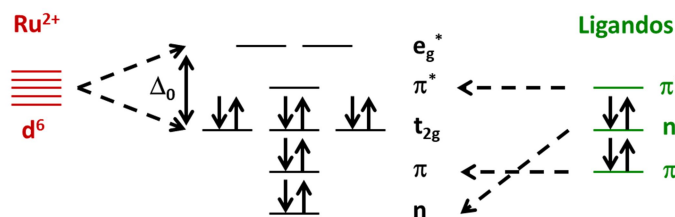
Los complejos de Ru(II) pueden ser *homolépticos*, si los tres ligandos coordinados al metal son idénticos, o *heterolépticos*, cuando al menos uno de los ligandos difiere del resto.

## 6.2. Propiedades físicas

Los compuestos de coordinación de Ru(II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelatantes se aíslan como sales de varios tipos de contraiones ( $\text{PF}_6^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ). Son sólidos a temperatura ambiente con puntos de fusión superiores a los 300 °C (con descomp.). La solubilidad de estos complejos depende del contraión y de los sustituyentes periféricos de los ligandos. Sales de aniones voluminosos como  $\text{PF}_6^-$ , tienden a ser solubles en disolventes polares apróticos (acetonitrilo, dimetilsulfóxido, dimetilformamida) y metanol. Por el contrario, las sales de cloruro y sodio son solubles en agua. Por tanto, la solubilidad de los complejos de Ru(II) puede seleccionarse a partir del contraión y de los sustituyentes en los ligandos.

## 6.3. Niveles de energía y estados electrónicos excitados

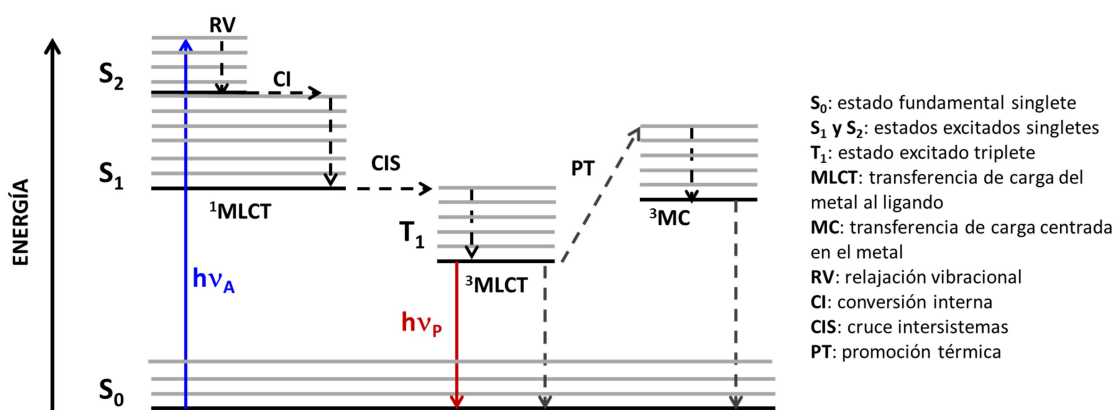
Los complejos luminiscentes de Ru(II) están constituidos por ligandos de tipo  $\alpha$ -diimina ( $\text{N}=\text{CH}-\text{CH}=\text{N}$ ) coordinados al centro metálico, con una geometría (pseudo)octaédrica. Estos ligandos se caracterizan por disponer de orbitales  $n$   $\sigma$ -dadores, situados sobre los átomos de nitrógeno, y  $\pi$ -aceptores, deslocalizados en la estructura aromática. Tal y como explica la teoría del campo del cristal, la disposición octaédrica de los ligandos produce un desdoblamiento de los orbitales  $d$  del metal debido a la diferente repulsión que experimentan éstos en función de su orientación espacial (Figura 30). Un electrón que ocupe un orbital  $d_{x^2-y^2}$  o  $d_{z^2}$  experimenta una mayor repulsión y, por tanto, su energía será más elevada que un electrón en un orbital  $d_{xy}$ ,  $d_{xz}$  o  $d_{yz}$ . Por tanto, los orbitales  $d$ , degenerados en el átomo aislado, se segregan en dos niveles de energía: uno inferior, triplemente degenerado ( $d_{xy}$ ,  $d_{xz}$  y  $d_{yz}$ ) denominado según criterios de simetría  $t_{2g}$  y otro superior, doblemente degenerado ( $d_{x^2-y^2}$  y  $d_{z^2}$ ), que se denomina  $e_g$ . La diferencia de energía ( $\Delta_0$ ) existente entre ambos niveles depende del radio y la carga del ión metálico, y de la naturaleza de los ligandos.



**Figura 30.** Orbitales moleculares en un complejo de Ru(II) homoléptico de simetría octaédrica constituido por ligandos simétricos de campo fuerte.

Los ligandos poliazaheterocíclicos quelatantes son por lo general de campo fuerte, por lo que producen un desdoblamiento grande y una configuración de “bajo espín”. Estos ligandos son compuestos aromáticos que disponen de orbitales moleculares de simetría  $\pi$  enlazantes ocupados y orbitales  $\pi^*$  antienlazantes vacíos, de energía relativamente baja, que actúan de orbitales vacíos de menor energía (LUMO). En la configuración  $d^6$  del Ru(II), los orbitales tipo  $t_{2g}$  del metal son los orbitales ocupados de mayor energía (HOMO) (Figura 30). Hay que tener en cuenta que este desdoblamiento de orbitales solo es aplicable a los complejos de Ru(II) homolépticos con ligandos quelatantes *simétricos* pues, de no ser así, la distribución de niveles energéticos se complica notablemente.

Cuando un complejo de Ru(II) se fotoexcita, los electrones promocionan a un orbital de mayor energía. Las transiciones electrónicas en estos complejos pueden ser de varios tipos (Figura 31): i) MLCT (“*metal-to-ligand charge transfer*”): es la transición de menor energía y corresponde a una transferencia de carga del metal al ligando ( $t_{2g} \rightarrow \pi^*$ ); ii) MC (“*metal centered*”): es una transición poco probable, al estar prohibida por simetría, y tiene lugar entre dos orbitales del metal ( $t_{2g} \rightarrow e_g^*$ ); iii) LC (“*ligand centered*”): tiene lugar cuando la transición se produce entre dos orbitales del ligando ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ); iv) LMCT (“*ligand-to-metal charge transfer*”): corresponde a una transferencia de carga del ligando al metal ( $\pi \rightarrow e_g^*$ ).



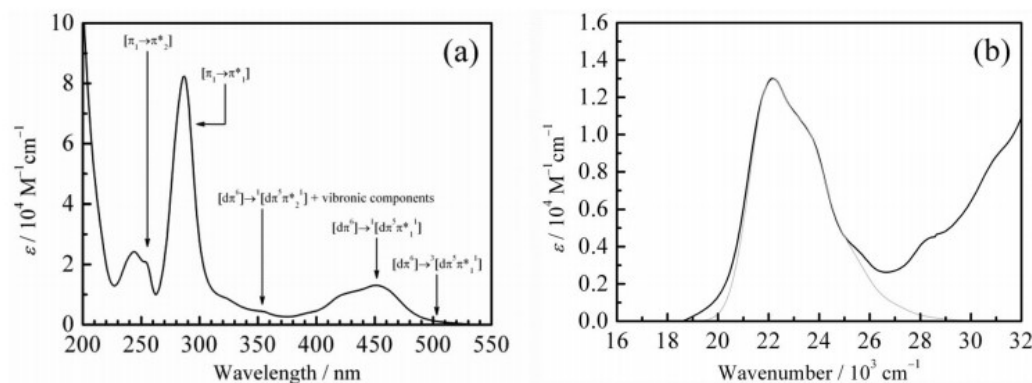
**Figura 31.** Diagrama de Jablonski de los estados de energía para un complejo de Ru(II) con ligandos  $\alpha$ -diimina. Las flechas discontinuas hacen referencia a procesos de desactivación no radiante.

Tras la transición electrónica, el electrón promocionado experimenta una rápida *relajación vibracional* (RV) seguida de una *conversión interna* (CI) hasta alcanzar el estado electrónico excitado de menor energía ( $S_1$ ). Tras un muy rápido *cruce intersistemas*<sup>&</sup>,<sup>254</sup> favorecido en estos complejos por la presencia del metal, el electrón alcanza un estado excitado triplete ( $^3\text{MLCT}$ ). Este estado excitado puede desactivarse por procesos bimoleculares (colisión con otras moléculas como el  $\text{O}_2$ ), o por procesos unimoleculares: i) luminiscencia, por emisión de un fotón; ii) desactivación no radiante, donde la energía se disipa en forma de calor; iii) promoción térmica. En esta última, el electrón accede a un estado electrónico excitado de energía ligeramente superior ( $^3\text{MC}$ ) por activación inducida por la temperatura, el cual se desactiva sin emisión de luz por pérdida no radiante de la energía o por reacción química, dando lugar a otros productos (reacción de fotosustitución del ligando dado que el  $^3\text{MC}$  es un estado de naturaleza  $\sigma^*$  al haber poblado los niveles  $e_g^*$ ) (Figura 31).

#### 6.4. Propiedades espectroscópicas y fotofísicas

Los espectros de absorción de los complejos de Ru(II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelatantes presentan bandas de absorción en la región UV-VIS del espectro electromagnético, que corresponden con las transiciones electrónicas descritas (Figura 32). Esta familia de complejos de Ru(II) muestra una ancha banda de absorción, con un máximo en torno a 440–500 nm ( $4000 < \epsilon_{\text{max}} < 40000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), que se corresponde con la transición MLCT ( $d \rightarrow \pi^*$ ), y dos intensas bandas de absorción en la región UV del espectro electromagnético que corresponden a las transiciones LC ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ), con máximos de absorción en torno a 185–220 nm y 280–320 nm ( $40000 < \epsilon_{\text{max}} < 100000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). La transición electrónica LMCT ( $\pi^* \rightarrow e_g^*$ ) es de alta energía y la banda correspondiente no aparece en la región del espectro observada. Por último, la transición electrónica MC ( $t_{2g} \rightarrow e_g^*$ ) suele solapar con otras transiciones (LC), ya que al estar prohibida es poco intensa.

<sup>&</sup> Por ejemplo, se ha determinado para el tris(2,2'-bipiridina)rutenio(II) que el estado  $^3\text{MLCT}$  se alcanza, desde el  $^1\text{MLCT}$ , en menos de 15 fs tras excitación a 400 nm.<sup>254</sup>



**Figura 32.** Espectro de absorción del  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3](\text{PF}_6)_2$  en  $\text{CH}_3\text{CN}$  a temperatura ambiente (a) y ampliación de su banda de absorción MLCT (negra en (b)). Reproducido de ref. 254.

Los espectros de emisión de los complejos de Ru(II) muestran una intensa banda de emisión en el rojo (550–850 nm), cuya anchura se extiende hasta el infrarrojo próximo. Aunque dicha banda se ha atribuido fundamentalmente a la desactivación radiante del estado electrónico de menor energía,  $^3\text{MLCT}$  ( $\pi^* \rightarrow d$ ), el fuerte acoplamiento espín-orbital proporcionado por el Ru(II) (efecto de átomo pesado), hace que la desactivación tenga lugar desde una mezcla de estados singlete y triplete. Este efecto determina una cinética de emisión de los complejos de Ru(II) intermedia entre la fluorescencia y la fosforescencia, con tiempos de vida de emisión típicos de 0.1 a 6  $\mu\text{s}$ .

El rendimiento cuántico de emisión de estos complejos de Ru(II) ( $\Phi_{\text{em}}$ , fracción de moléculas excitadas que regresan al estado fundamental por emisión de luminiscencia) depende de las constantes de desactivación radiante ( $\Gamma$ ) y no radiante ( $k_{\text{nr}}$ ), y del rendimiento cuántico de *cruce intersistemas* ( $\Phi_{\text{CIS}}$ ) (E 11). En ausencia de  $\text{O}_2$  y en disolución, el  $\Phi_{\text{em}}$  de los complejos polipiridílicos de Ru(II) se encuentra comprendido entre 0.001 y 0.4.

$$\Phi_{\text{em}} = \Phi_{\text{CIS}} \frac{\Gamma}{\Gamma + k_{\text{nr}}} \quad (\text{E } 11)$$

El  $\Phi_{\text{CIS}}$  se define como el número de estados excitados triplete (emisores,  $^3\text{MLCT}$ ) que se forman a partir de los estados excitados singletes ( $^1\text{MLCT}$ ), dividido entre el número de fotones absorbidos. En los complejos de Ru(II), el  $\Phi_{\text{CIS}}$  depende del tipo de ligandos poliazaheterocíclicos quelatantes. Mientras que los complejos de Ru(II) con ligandos heterocíclicos de seis eslabones presentan un  $\Phi_{\text{CIS}}$  en torno a la unidad, como el tris(2,2'-bipiridina)rutenio(II) ( $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ ), en los complejos de Ru(II) con ligandos heterocíclicos de cinco eslabones, el  $\Phi_{\text{CIS}}$  suele alejarse de la unidad.<sup>255</sup> En estos últimos, la vía de desactivación

predominante es la *conversión interna* del estado excitado singlete ( $^1\text{MLCT}$ ) al estado fundamental.

La localización del electrón sobre uno de los ligandos en el estado  $^3\text{MLCT}$ <sup>254</sup> determina una variación significativa de la polaridad de la molécula al pasar a su estado excitado de mínima energía. Por ello, la emisión de los complejos de Ru(II) suele verse afectada por el medio en el que se encuentran.<sup>243,256</sup> La *polaridad del disolvente* influye directamente en la diferencia de energía entre el estado excitado y el estado fundamental (desplazamiento de Stokes). Las moléculas de los disolventes polares estabilizan en mayor medida el estado excitado de la molécula luminiscente, produciendo un desplazamiento batocrómico (a mayores longitudes de onda o menores energías) del máximo de emisión. Este efecto está descrito por la ecuación de Lippert-Mataga<sup>257-258</sup> y es mayor a medida que aumenta la polaridad del disolvente y más notable en moléculas luminiscentes polares. Por último, la temperatura también ejerce un efecto notable en las características de la emisión debido a la desactivación por promoción térmica al estado  $^3\text{MC}$  descrita más arriba. A medida que aumenta la temperatura del medio, aumenta la probabilidad de que un electrón en el estado excitado  $^3\text{MLCT}$  promocioe al estado  $^3\text{MC}$ , estado excitado desde el que se produce una desactivación no radiante disminuyendo la intensidad, tiempo de vida y rendimiento cuántico de emisión.<sup>252</sup>

## 6.5. Fotoquímica de los complejos de Ru(II)

Como hemos indicado, al iluminar un complejo de Ru(II) se produce inicialmente la transferencia de un electrón desde un orbital  $t_{2g}$  del átomo metálico, al orbital  $\pi^*$  deslocalizado por los ligandos coordinados al mismo. Una vez relajado térmicamente, el electrón se encuentra localizado en un ligando, pero “saltando” de uno a otro ligando hasta que la desactivación del estado excitado al estado fundamental tiene lugar por una suma de procesos no radiantes (*conversión interna* (CI) y el *cruce intersistemas* (CIS)), y radiantes (*luminiscencia*). El tiempo de vida del estado excitado ( $\tau_0$ ) viene determinado por la inversa de la suma de las constantes de desactivación radiante ( $\Gamma$ ) y no radiante ( $k_{nr}$ ) (E 12).

$$k_M = \Gamma + k_{CI} + k_{CIS} = \Gamma + k_{nr} = \frac{1}{\tau_0} \Rightarrow \tau_0 = \frac{1}{(\Gamma + k_{nr})} \quad (\text{E } 12)$$

Durante el tiempo de vida del estado excitado, también pueden tener lugar procesos de desactivación *bimolecular* (transferencia de energía, transferencia de electrón, transferencia de protón), que compiten con los procesos intrínsecos de desexcitación. Como consecuencia de la interacción de la molécula excitada ( $M^*$ ) con una molécula desactivadora (Q) se produce la

desactivación del estado excitado, con la consiguiente variación en las características de emisión (intensidad, tiempo de vida y rendimiento cuántico de emisión) de la molécula luminiscente. La ecuación de Stern-Volmer describe las reacciones bimoleculares entre molécula excitada y molécula desactivadora (E 5). Todos estos procesos intermoleculares se han empleado para el desarrollo de sensores luminiscentes donde el complejo de Ru(II) es el indicador óptico y el analito (o una tercera especie relacionada directamente con él), la molécula desactivadora.

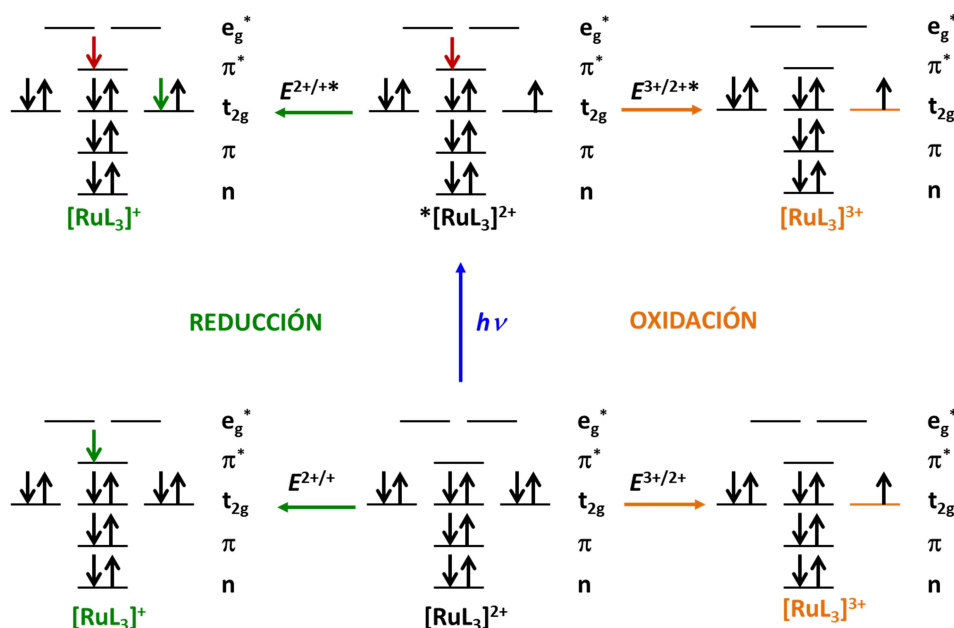
Los complejos de Ru(II) con ligandos poliazaheteroaromáticos quelatantes presentan una rica fotoquímica, (i) por sus largos tiempos de vida de emisión, que permiten que los procesos de desactivación bimolecular tengan lugar con apreciable eficiencia; (ii) por los altos potenciales de oxidación y reducción de estos complejos tras la excitación y (iii) por la capacidad de participar en procesos de transferencia de energía eficaces. Además, la posibilidad de *diseñar “a medida”* los ligandos coordinados al metal, de tal forma que proporcionen unas propiedades químicas al complejo de Ru(II) que le permita interaccionar específicamente con el analito (Q), abre la posibilidad a otros procesos de desactivación bimolecular (transferencia de protón, redox, complejación) y, por tanto, al desarrollo de sensores sensibles a un abanico más amplio de determinandos. A continuación, se describen tres tipos de reacciones bimoleculares de desactivación de la luminiscencia de los complejos de Ru(II).<sup>242</sup>

### 6.5.1. Transferencia de electrón

En los complejos de Ru(II) la presencia de un metal que puede oxidarse y reducirse formando complejos de Ru monovalentes y trivalentes relativamente estables, confiere a estos compuestos la posibilidad de participar en procesos de desactivación del estado excitado (<sup>3</sup>MLCT) por reacciones de transferencia de electrón (“fotorredox”, Figura 33).

Estas propiedades redox pueden modularse a partir de la selección de los ligandos que coordinan al metal. El carácter  $\sigma$ -dador y  $\pi$ -aceptor de los ligandos es el responsable de los potenciales redox de los complejos de Ru(II). En el proceso de reducción, el complejo de Ru(II) acepta un electrón en el orbital  $\pi^*$  de un ligando (el de energía más baja). El potencial de reducción ( $E^{2+/+}$ ) es mayor (menos negativo) en los complejos con ligandos electroattractores. Por ejemplo, los complejos de Ru(II) con ligandos fuertemente  $\pi$ -aceptores del tipo 2,2'-bipirazina, se reducen fácilmente. La oxidación de los complejos de Ru(II) tiene que ver con la energía de los orbitales  $t_{2g}$  del metal coordinado. Los ligandos con sustituyentes electrodonadores en la esfera de coordinación del Ru(II), aumentan la energía de los orbitales  $t_{2g}$ , disminuyendo el potencial de oxidación del complejo de Ru(II). De este modo, los complejos de Ru(II) con heterociclos  $\pi$ -aceptores como el 2-(1,3-tiazol-2-il)pirazina presentan un potencial de oxidación ( $E^{3+/2+}$ ) mayor que los complejos de Ru(II) con ligandos electrodonadores como el 2-(2'-

piridil)imidazol).<sup>259</sup> Se han estudiado las propiedades electroquímicas de una variedad de complejos de Ru(II)<sup>260-264</sup> confirmando que éstos son más oxidantes y reductores en su estado excitado que en su estado fundamental.<sup>265</sup>



**Figura 33.** Esquema general de las reacciones redox de los complejos de Ru(II) en el estado fundamental y en el estado excitado.

Gracias a estas propiedades electroquímicas, el estado electrónico excitado de un complejo luminiscente de Ru(II) (\*Ind) puede desactivarse en presencia de un analito reductor (Red) u oxidante (Ox) por un proceso bimolecular de transferencia electrónica. Si el analito es un agente oxidante, este proceso fotoinducido conduce al estado fundamental del indicador oxidado y al analito mono-reducido. Así, iones oxidantes como el Fe(III), Cu(II), Eu(III), Tl(III), Ag(I), Hg(II) desactivan al  $*[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$  dando lugar al  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{3+}$ . Por el contrario, si la molécula desactivadora es un reductor, como Fe(II) o Eu(II), la desactivación del estado excitado del complejo polipiridílico de Ru(II) tiene lugar por fotoreducción. La rápida retro-transferencia electrónica entre ambas especies recién formadas tiene lugar sin cambio químico neto. Las reacciones de transferencia electrónica fotoinducidas serían:



La eficiencia del proceso de desactivación de la luminiscencia del complejo de Ru(II) es proporcional a la concentración del analito (ecuación de Stern-Volmer, E 5). Por tanto, a partir

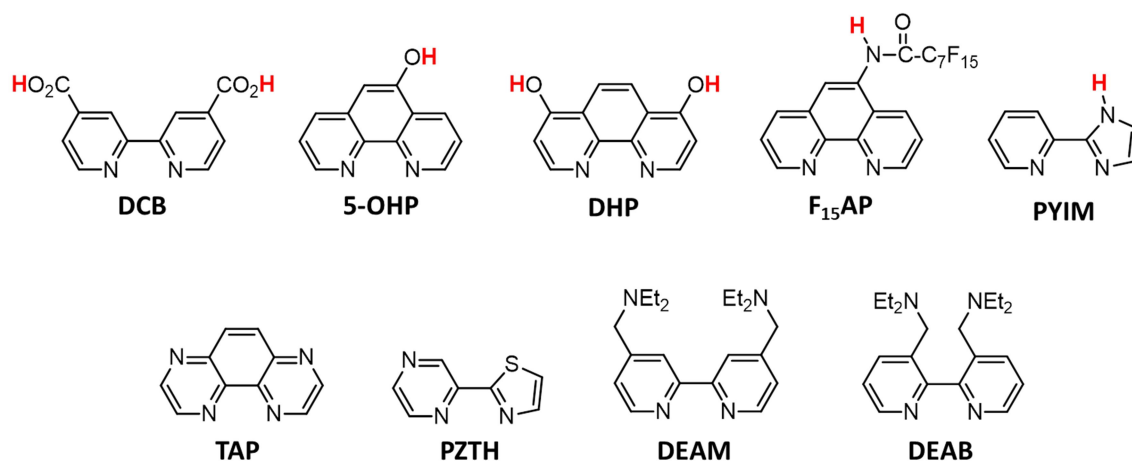


de la variación de la intensidad y tiempo de vida de emisión, es posible determinar la concentración de un analito con propiedades redox empleando la ecuación de Stern-Volmer para una desactivación dinámica, donde Q es la concentración del analito reductor (u oxidante):

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + k_q \tau_0 [\text{Red o Ox}] \quad (\text{E } 13)$$

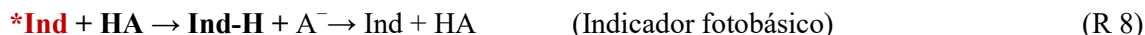
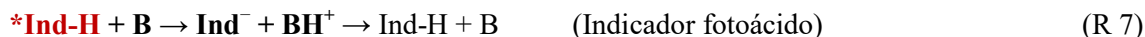
### 6.5.2. Transferencia de protón

Los complejos polipiridílicos de Ru(II) pueden adquirir propiedades ácido-base si se incorporan en sus ligandos grupos dadores o aceptores de protones (Figura 34).



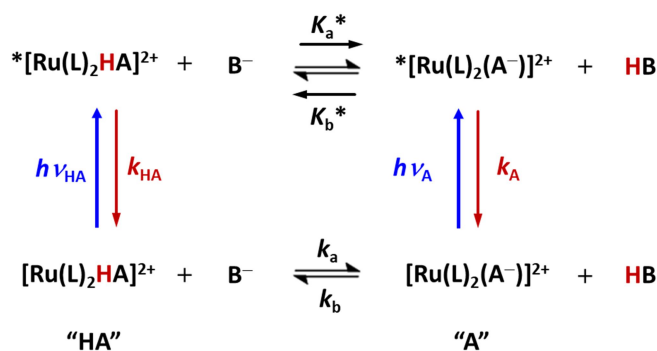
**Figura 34.** Ligandos poliazaheteroaromáticos con grupos dadores o aceptores de protones empleados en la síntesis de complejos de Ru(II) como indicadores de pH. DCB: Ácido 2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxílico. 5-OHP: 5-hidroxifenantrolina. DHP: 1,10-fenantrolina-4,7-diol. F15AP: 5-perfluorooctanamida-1,10-fenantrolina. PYIM: 2-(2'-piridil)imidazol. TAP: pirazino[2,3-f]quinoxalina. PZTH: 2-(1,3-tiazol-2-il)pirazina. DEAM: *N*-(4'-[(diethylamino)metil]-2,2'-bipiridin-4-il)metil)-*N,N*-dietilamina. DEAB: *N*-(3'-[(diethylamino)metil]-2,2'-bipiridin-3-il)metil)-*N,N*-dietilamina.

Estos complejos luminiscentes pueden participar en reacciones de transferencia de protón con otras moléculas de carácter ácido-base, a veces con enormes variaciones de acidez/basicidad al pasar al estado excitado  $^3\text{MLCT}$ . Las reacciones de un indicador fotoácido con una especie básica y de un indicador fotobásico con una especie ácida serían:



Como consecuencia de la interacción entre el complejo de Ru(II) luminiscente y la especie ácida o básica, se produce una variación en las características de emisión (intensidad y tiempo de vida de emisión) de los complejos de Ru(II), cuya magnitud depende de la concentración de la especie ácida o básica de la muestra. Así, es posible emplear complejos de Ru(II) luminiscentes para la determinación del pH de una disolución, siempre que la desactivación por transferencia de protón no sea un proceso irreversible (algo muy frecuente que, por desgracia, no ha sido verificado por los autores de los trabajos publicados).<sup>266-269</sup>

Tomando como ejemplo el complejo de Ru(II) ácido (HA) de la Figura 35, el hecho de que se produzca la transferencia de protón a la especie básica ( $\text{B}^-$ ) en el estado excitado depende de las constantes relativas de desactivación de la luminiscencia de la forma ácida del complejo de Ru(II) ( $k_{\text{HA}}$ ) y de transferencia de protón ( $k_a^*$ ). Si la  $k_a^* > k_{\text{HA}}$ , la transferencia del protón tiene lugar en el estado excitado. Del mismo modo, la retro-transferencia del protón al complejo de Ru(II) tendrá lugar en el estado excitado si la constante de retro-transferencia del protón ( $k_b^*$ ) es superior a la constante de desactivación de la luminiscencia de la forma base del complejo de Ru(II) ( $k_A$ ) ( $k_b^* > k_A$ ). Si los dos procesos tienen lugar en el estado excitado, se establecerá un auténtico equilibrio ácido-base antes de que se produzca la emisión del complejo de Ru(II), y lo que se debe observar es un único tiempo de vida que varía con la acidez de la muestra.



**Figura 35.** Esquema general de las reacciones de transferencia de protón de un complejo de Ru(II) ácido con una especie básica.

En los complejos de Ru(II) es difícil que se establezca el equilibrio ácido-base en su estado excitado,<sup>270</sup> y lo que tiene lugar por lo general es un proceso de transferencia protónica irreversible en el estado excitado. Esto se debe a los cortos tiempos de vida de emisión de la forma ácida o básica del complejo de Ru(II) y/o a la lenta transferencia del protón a/desde el

complejo de Ru(II). En este caso, se observa también un único tiempo de vida de emisión, correspondiente a la forma ácida (o básica) del complejo de Ru(II) excitado, cuya magnitud varía en función de la acidez de la muestra.<sup>271</sup> A veces, incluso no se produce transferencia protónica alguna en el estado excitado pero, aún así, pueden utilizarse como auténticos sensores de pH gracias a la protonación/desprotonación en su estado fundamental.<sup>270</sup> Como en otros luminóforos, las propiedades ácido-base de complejos de Ru(II) suelen ser muy diferentes en el estado fundamental y en el estado excitado, debido a la redistribución de la densidad electrónica que tiene lugar tras la excitación.

### 6.5.3. *Transferencia de energía*

La desactivación del estado excitado de una molécula luminiscente puede tener lugar por un proceso en el que la energía electrónica de una molécula dadora se transfiere a una molécula aceptora, que se encuentra en sus proximidades. Esta transferencia de energía puede tener lugar mediante una interacción resonante entre cromóforos sin colisión (Förster) o por intercambio electrónico durante la colisión (Dexter).

En la transferencia de energía tipo Dexter, las moléculas dadora y aceptora chocan, produciéndose un solapamiento de los orbitales electrónicos y el intercambio del electrón excitado del dador con un electrón del HOMO del aceptor. La transferencia de energía Dexter produce un cambio de espín tanto del dador como del aceptor. Este proceso es efectivo sólo a distancias cortas entre dador y aceptor ( $< 10 \text{ \AA}$ ), ya que requiere solapamiento de los orbitales para que se produzca la doble transferencia electrónica.

La transferencia de energía Förster no requiere de un contacto físico entre moléculas y tiene lugar a distancias más largas entre dador y aceptor ( $10\text{--}100 \text{ \AA}$ ). La transferencia de energía se produce por una interacción dipolo-dipolo (aceptor/dador), en que la molécula dadora transmite a la aceptora, de forma no radiante, un cuanto de energía por resonancia de los correspondientes dipolos de la transición de regreso al estado fundamental (cromóforo dador) y de ascenso al estado excitado (cromóforo aceptor). Este proceso requiere el solapamiento eficaz del espectro de emisión del dador y del espectro de absorción del aceptor.

El  $\text{O}_2$  desactiva eficazmente la emisión de moléculas luminiscentes por un proceso de transferencia de energía.<sup>272</sup> Esta desactivación está favorecida en los complejos de Ru(II), porque la energía del estado excitado de mínima energía del oxígeno ( $^1\text{O}_2$ ) ( $94.2 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) es menor que la energía del estado excitado  $^3\text{MLCT}$  de los complejos de Ru(II) (ca.  $600 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), y segundo, debido a los largos tiempos de vida de emisión de estos complejos, que permiten que se produzca la colisión entre el  $\text{O}_2$  y el complejo de Ru(II), antes de que éste se desactive por

completo. El mecanismo predominante en la desactivación de la luminiscencia por O<sub>2</sub> es la transferencia de energía tipo Dexter dada la ausencia de solapamiento espectral dador/aceptor. Dicho proceso fotoinducido conduce al estado fundamental del complejo de Ru(II) y a un estado electrónico excitado de la molécula de oxígeno denominado “oxígeno singlete” (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>).<sup>273</sup> El <sup>1</sup>O<sub>2</sub> es una especie efímera que rápidamente regresa a su estado fundamental (<sup>3</sup>O<sub>2</sub>), sin consumo neto del indicador ni del analito, aunque éste se encuentre a muy bajas concentraciones. La reacción fotoquímica bimolecular se describe como:



La luminiscencia de los complejos de Ru(II), cuyo tiempo de vida típico se encuentra entre 0.1 y 6 μs, es muy adecuada para medidas de O<sub>2</sub> disuelto en agua o en atmósferas laborales o industriales. La ecuación de Stern-Volmer para una desactivación dinámica (E 5), predice la variación de la intensidad y del tiempo de vida de emisión del indicador en función de la concentración de O<sub>2</sub>, donde Q es la concentración de O<sub>2</sub> en la muestra (E 14), lo que permite su determinación mediante el adecuado calibrado.

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + k_q \tau_0 [\text{O}_2] \quad (\text{E } 14)$$



# Objetivos

---



El objetivo general de la presente tesis doctoral es desarrollar nuevos sensores luminiscentes sobre fibra óptica para la monitorización en continuo, en tiempo real e *in situ*, con la misma unidad optoelectrónica, de tres parámetros de calidad química del biometano: O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y NH<sub>3</sub>. Idealmente, los nuevos sensores se deben caracterizar por una sensibilidad y unos límites de detección y cuantificación adaptados a los niveles de O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y NH<sub>3</sub> en biometano, una adecuada precisión y exactitud, unos tiempos de respuesta y recuperación cortos (pocos segundos), una alta selectividad al analito de interés, una excelente estabilidad y robustez a largo plazo, que le aporte una larga durabilidad (meses), y un sencillo y poco frecuente mantenimiento de la unidad sensora.

El desarrollo de estos nuevos sensores luminiscentes requiere de la consecución de una serie de actividades de carácter multidisciplinar, en áreas como la química (orgánica, analítica, física), la óptica y la electrónica. En base a dichas actividades los objetivos específicos fijados para la presente tesis doctoral son:

1. Diseñar, sintetizar y caracterizar espectroscópicamente y fotoquímicamente los nuevos indicadores luminiscentes sensibles a los analitos objetivo.
2. Inmovilizar los indicadores en soportes poliméricos adecuados, permeables al analito de interés.
3. Caracterizar espectroscópicamente las diferentes películas poliméricas sensoras fabricadas y ensayar su respuesta frente a los analitos objetivo, para seleccionar la mejor combinación indicador-soporte polimérico.
4. Calibrar y validar los nuevos sensores luminiscentes desarrollados en laboratorio, con el prototipo optoelectrónico multisensor.
5. Instalar los nuevos sensores luminiscentes sobre fibra óptica en una planta de producción de biometano para la monitorización en continuo de O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y NH<sub>3</sub>.
6. Procesar conjuntamente los resultados obtenidos en los ensayos *in situ* de los nuevos sensores luminiscentes desarrollados y de otros sensores comerciales instalados en las mismas instalaciones.





# Publicaciones científicas

---



A continuación se incluyen cuatro artículos científicos que recogen el trabajo realizado en el desarrollo de sensores luminiscentes para la monitorización de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$  en biometano, de acuerdo a los objetivos de la presente Tesis Doctoral.

Por un lado, en los **primeros tres artículos** se describe el desarrollo de tres sensores luminiscentes para la monitorización de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$  en biometano, así como su aplicación en una planta de producción de biometano.

Para ello, se diseñaron y sintetizaron una serie de indicadores, cuyas propiedades luminiscentes se vieron alteradas en presencia del analito de interés. La caracterización espectroscópica y fotoquímica de dichas moléculas luminiscentes, permitió determinar los parámetros espectroscópicos y predecir aquellos indicadores con mayor sensibilidad. La posterior inmovilización de los indicadores en distintos materiales poliméricos proporcionó una variedad de materiales luminiscentes sensores. Tras la evaluación de la respuesta de estas membranas sensoras al analito de interés, se seleccionaron aquellas combinaciones indicador/soporte polimérico con mejores prestaciones analíticas. La caracterización analítica de los materiales luminiscentes sensores permitió determinar la sensibilidad, los límites de detección y cuantificación, los tiempos de respuesta y recuperación, la selectividad, la precisión y la estabilidad de los sensores luminiscentes seleccionados. El nuevo sistema de cuantificación de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$  fue instalado en una planta de producción de biometano, situada en Jerez de la Frontera (España), donde se llevó a cabo la monitorización en continuo y en tiempo real de los tres parámetros químicos del biometano, durante más de cuatro meses.

Los tres sensores luminiscentes desarrollados demostraron ser una buena alternativa a los dispositivos de medida existentes para la monitorización *in situ*, en continuo y en tiempo real de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$  en biometano, gracias a su alta sensibilidad, buena selectividad, alta precisión, cortos tiempos de respuesta y recuperación, fácil fabricación, sencillo manejo, escaso mantenimiento y coste asequible. Con respecto a la estabilidad a largo plazo, los tres materiales luminiscentes sensores mostraron inicialmente una estabilidad limitada. No obstante, la incorporación de membranas protectoras, el empleo de soportes poliméricos alternativos o la instalación de sistemas de limpieza automáticos permitieron alargar la durabilidad de los sensores luminiscentes.

En líneas generales, el desarrollo de los tres sensores luminiscentes sigue un proceso similar, que consta de varias etapas, que se pueden resumir en:

1. Ingeniería molecular y síntesis de indicadores luminiscentes.
2. Caracterización espectroscópica y fotoquímica de los indicadores luminiscentes.

3. Fabricación de materiales luminiscentes sensores y evaluación de su respuesta frente al analito de interés.
4. Selección y optimización de las membranas sensoras con mejores prestaciones analíticas.
5. Caracterización analítica de los sensores luminiscentes.
6. Aplicación de los nuevos sensores en una planta de producción de biometano.

Por otro lado, en el **cuarto artículo** se describe el diseño y síntesis de dos complejos de Ru(II) con grupos pireno unidos covalentemente a los ligandos poliazaheteroaromáticos quelatantes, como prometedores indicadores luminiscentes para el desarrollo de sensores luminiscentes de O<sub>2</sub> de elevada sensibilidad. La presencia de grupos pireno en la esfera de coordinación del metal produce un aumento del tiempo de vida de emisión del complejo de Ru(II), con el consiguiente aumento de la sensibilidad del mismo al O<sub>2</sub>.

Se prepararon dos complejos de Ru(II) homolépticos con grupos pireno (RPPR3 y RBSPR3), unidos covalentemente por enlace sencillo C–C y enlace doble C=C a los ligandos 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina, respectivamente, empleando la síntesis asistida por microondas. Se estudiaron las propiedades espectroscópicas y fotofísicas de los dos indicadores, así como la sensibilidad al O<sub>2</sub> en disolución. Posteriormente se fabricaron membranas sensoras a partir de la inmovilización de los indicadores en distintos soportes poliméricos y se estudió la sensibilidad de dichos sensores al O<sub>2</sub>.

De los estudios en disolución, se observó que el indicador RPPR3 exhibía una elevada sensibilidad al O<sub>2</sub>, dado su elevado tiempo de vida de emisión (150  $\mu$ s). Sin embargo, una vez inmovilizado el indicador no mostraba la excelente sensibilidad observada en disolución. Por lo que se decidió explorar nuevos soportes poliméricos que permitieran mantener los largos tiempos de vida de emisión mostrados en disolución.





# 1. Luminescent sensor for O<sub>2</sub> detection in biomethane streams

Sensors &amp; Actuators: B. Chemical 279 (2019) 458–465



Contents lists available at ScienceDirect

Sensors and Actuators B: Chemical

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/snb](http://www.elsevier.com/locate/snb)

## Luminescent sensor for O<sub>2</sub> detection in biomethane streams

Idoia Urriza-Arsuaga, Maximino Bedoya\*, Guillermo Orellana\*

Optical Chemosensors &amp; Applied Photochemistry Group (GSOLFA), Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain



Adapted with permission from:

Sensors and Actuators B: Chemical 2019, 279, 458–465

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.09.108>

Copyright © 2019 Elsevier

## Abstract

Biomethane is a sustainable biofuel composed of methane and minor components such as CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> or H<sub>2</sub>S. The presence of O<sub>2</sub> can be deleterious for the integrity of the pipelines and gas storage systems, as it causes corrosion and may involve explosions. Therefore, O<sub>2</sub> monitoring in biomethane has become mandatory. European Standard EN16723 establishes maximum limits allowed for its injection into the natural gas distribution grid or its use as a vehicle fuel. Consequently, reliable O<sub>2</sub> monitors must be installed in biomethane production plants. We have developed sensitive, selective, sturdy luminescent optosensors for *in situ* real-time O<sub>2</sub> measurements in biomethane using selected Ru(II) polypyridyls and supports. The sensing layers are interrogated with a dedicated field-deployable fiberoptic phase-sensitive luminometer. The detailed manufacturing, analytical characterization and testing of the O<sub>2</sub> optosensors are reported herein. They display a ca. 1–10000 ppmv O<sub>2</sub> range, response (*t*<sub>90</sub>) and recovery times (*t*<sub>–90</sub>) shorter than 30 s, and repeatability and reproducibility better than 6.5%, all without interference from other components (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S or mercaptans). The performance of one prototype has been verified for more than 1 year for discontinuous measurements and more than 6 months at a biomethane production plant in southern Spain.

**Keywords:** luminescent sensor, Ru(II) polypyridyls, oxygen measurements, biomethane, upgrading, biogas.



## 1.1. Introduction

Biomethane is becoming an interesting alternative fuel for replacing part of the current non-sustainable fuel sources due to its numerous advantages. It can be generated locally, diminishing the dependence on fossil fuels. Biomethane contributes to sustainable waste management and to the decrease of greenhouse gases emission, not only because organic wastes are used as feedstock for biogas production, but also by preventing emission of those gases produced by the aforementioned wastes in landfills or farms. Moreover, as its composition is close to that of natural gas and displays similar properties, it can be used for the same applications and can benefit from all those well-developed natural gas infrastructures for distribution and storage.<sup>1</sup>

Biomethane produced by the so called “biological” pathway consists of two major steps: (i) biogas generation through anaerobic fermentation of organic feedstock (such as energy crops, livestock manure, the organic fraction of municipal solid waste or sewage sludge from wastewater),<sup>2</sup> and (ii) an upgrading process by which the biogas containing a low methane concentration (35–70%) is cleaned of particles, water, carbon dioxide and other components such as hydrogen sulfide, siloxanes, ammonia or oxygen, through different physical and chemical technologies,<sup>3–4</sup> providing a gas with > 96% methane. The actual upgrading process and, consequently, the biomethane composition is determined by its final use.<sup>5</sup> So far, injection of biomethane in the natural gas grids or its use as a fuel for vehicles requires the highest quality, which is established by regulations (e.g. the 2017 European Standards EN 16723-1, and -2 respectively).<sup>6</sup> These norms mandate to monitor the biomethane composition. Among the contaminants that biomethane can contain, molecular oxygen is considered a threat for the integrity of the pipelines and gas storage systems, as it causes corrosion and can involve the risk of explosion.<sup>7</sup> The aforementioned European specification establishes a maximum limit of 0.001% (mol/mol) O<sub>2</sub> (equivalent to 10 ppmv), expressed as a scrolling 24 h average, in the grid injection points and interconnection points. Nevertheless, up to 1% concentration is permitted in applications such as vehicle fueling (EN 16723-2) and underground storage (EN 16726).<sup>8</sup>

Currently, in biomethane production plants, O<sub>2</sub> is typically measured by gas chromatography (GC) using a thermal conductivity detector, e.g. according to norm EN-ISO 6974,<sup>9</sup> being this technique usually expensive and requiring a frequent time-consuming maintenance. Besides, O<sub>2</sub> can also be determined by electrochemical analyzers,<sup>10</sup> which require maintenance at short intervals and display important cross-interference with other biomethane components, causing false readings and reducing the operational lifetime of the cell. Moreover, O<sub>2</sub> is also measured by paramagnetic devices,<sup>11</sup> the sensitivity of which is limited (typically > 0.05%). The proper operation of such instruments depends upon a quite expensive and specific

gas sample pre-conditioning system. Although several devices for O<sub>2</sub> measurements in biogas and biomethane, based on one of those techniques, are commercially available, the need of developing new sensors is unquestionable as each of the aforementioned ones is affected by its own set of issues.

In this regard, in the last years luminescent oxygen sensors have gained popularity due to their superior features namely, sensitivity, wavelength selectivity, long distance monitoring capability, immunity to electrical interference, lack of O<sub>2</sub> consumption, absence of cross-sensitivity to most other gases, more robust calibration and almost null maintenance.<sup>12-14</sup> Luminescent O<sub>2</sub> sensors are based on the dynamic *quenching* of the fluorescence or phosphorescence of an indicator dye by the analyte, which results in decreased emission intensity and lifetime of the photoexcited dye. This collisional process is described by the so-called Stern-Volmer (SV) equation<sup>15</sup> (E 1),

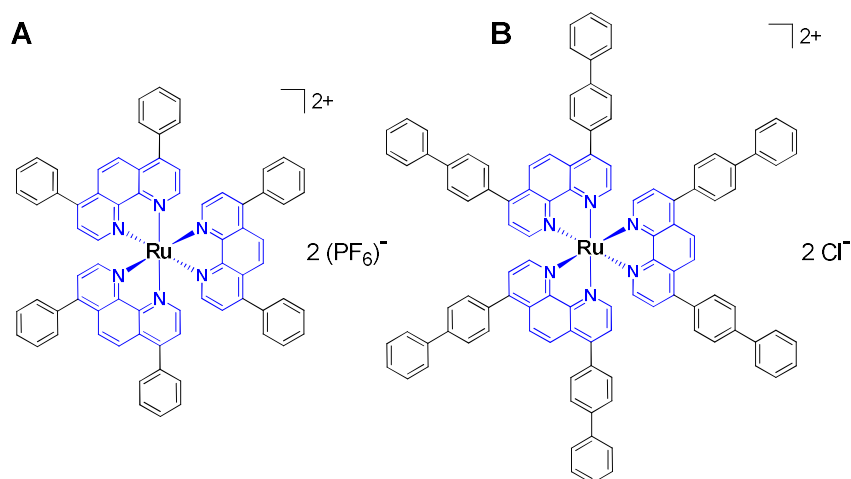
$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q] \quad (\text{E } 1)$$

where  $I_0$  ( $\tau_0$ ) and  $I$  ( $\tau$ ) are the luminescence intensities (lifetime) in the absence and in the presence of O<sub>2</sub>,  $K_{SV}$  is the SV constant,  $k_q$  is the bimolecular quenching constant and  $[Q]$  the O<sub>2</sub> concentration (O<sub>2</sub> partial pressure in the case of gas measurements). Nevertheless, the SV is no longer linear in heterogeneous media such as immobilized indicator dyes (see below).

Typically, luminescent O<sub>2</sub> sensors consist of an indicator dye immobilized into a gas-permeable polymer matrix, which not only acts as a support for the dye, but also has significant effects on the selectivity, sensitivity, dynamic range, response time and (photo)stability of the optical sensor.<sup>16</sup> Therefore, the selection of both, indicator dye and matrix, is crucial to the development of a suitable optical O<sub>2</sub> sensor for a particular application. Over the last three decades, a plurality of indicator dyes for O<sub>2</sub> sensing have been described in the literature.<sup>17</sup> Luminescent ruthenium(II) complexes with polyazaheteroaromatic ligands are among the most popular owing to their unique properties,<sup>18</sup> being remarkable their versatility: through a judicious design and selection of the heterocyclic chelating ligands, indicator dyes sensitive to different target analytes can be prepared without the need to modify the instrumentation to interrogate them (light source, optical filters, detector and electronics). Such instruments are already commercially available.<sup>19</sup> Within the luminescent chemical sensors, the emission lifetime-based ones provide clear advantages over intensity-based sensors, as they are independent of the excitation source and detector aging, optical fiber movements and photobleaching of the indicator dye.<sup>20</sup> When developing lifetime-based luminescent sensors,

phase-sensitive detection of the modulated emission from the indicator dye has become the best choice, since the required instrumentation is simple, fast responding and affordable.

An O<sub>2</sub> sensor based on a luminescent Ru(II) complex and its application to a pilot biogas reactor monitoring has been published.<sup>21</sup> However, in addition to be based on emission intensity measurements, display a significant photoinstability and have being tested only in a laboratory setup, it would not be suitable for biomethane applications due to its low sensitivity (ca. 0.2–100% dynamic range). Luminescent optical sensors for trace O<sub>2</sub> measurements in the gas phase are based on either long-lived phosphorescent ruthenium polypyridyls, iridium cyclometallated complexes, metalloporphyrins, boron and aluminium chelates, or fullerenes often in combination with O<sub>2</sub>-permeable films, fibers or adsorbing supports (fluorinated polymers, silicone, polystyrene, polypropylene, silica sol-gels or silica particles)<sup>13,17,22-27</sup> (see also Table S1 in the Supplementary material for state-of-the-art examples and references). However, to the best of our knowledge, none of them has been applied so far to biomethane monitoring.



**Figure 1.** Chemical structures of the luminescent tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) (RD3) (**A**), and tris(4,7-bis([1,1'-biphenyl]-4-yl)-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) dichloride (RB3) (**B**) dioxygen indicator dyes.

In this paper, we report the development and in situ application of two robust sensitive luminescent sensors based on tris(4,7-bis([1,1'-biphenyl]-4-yl)-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) dichloride (abbreviated, RB3) or tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) (RD3) indicator dyes (Figure 1), immobilized on silica gel, for O<sub>2</sub> detection in biomethane streams. The novel optodes are interrogated by a modulated LED source and the luminescence phase shift is detected with a ruggedized portable instrument, specifically designed for in situ environmental and industrial monitoring. Its spectroscopic and detailed analytical characterization is also reported, as well as

selectivity and long-term studies. Finally, its first application to measurements in an actual biomethane production plant is also illustrated.

## 1.2. Materials and methods

### 1.2.1. Chemicals, supports and gases

Reagents for synthesis, mineral acids, solvents, and the preparation of RD3 and RB3 indicator dyes salts (Figure 1) are described in the Supplementary material. Hydrophilic fumed silica (S-5130) was from Sigma-Aldrich, hydrophobic fumed silica (AEROSIL R812) from Evonik (Hanau, Germany), and Isolute SCX sorbent from Biotage (Uppsala, Sweden). Purified water was from a Direct-Q 3UV system (Merck Millipore, Bedford, MA). Nitrogen (99.9999%) and methane (99.9995%) were from cylinders provided by Contse (San Sebastián de los Reyes, Spain); both gases were further passed through an Agilent OT3-2-SS oxygen/water trap (Santa Clara, CA) to reach the desired purity ( $< 15$  ppbv  $O_2$  and  $< 25$  ppbv moisture). Air from cylinders (99.995%) was from Praxair (Madrid, Spain). Certified binary mixtures of  $O_2$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$  or  $CH_3SH$  in  $N_2$  (Contse) had the actual concentrations specified in Table S2. Synthetic biomethane containing  $CH_4$  (89.6% by volume),  $CO$  (2% by volume),  $CO_2$  (3% by volume),  $H_2$  (5% by volume),  $O_2$  (0.01% by volume), benzene (100 ppmv), toluene (100 ppmv) and xylene (100 ppmv) was from Linde (Alcalá de Henares, Spain).

### 1.2.2. Instrumentation

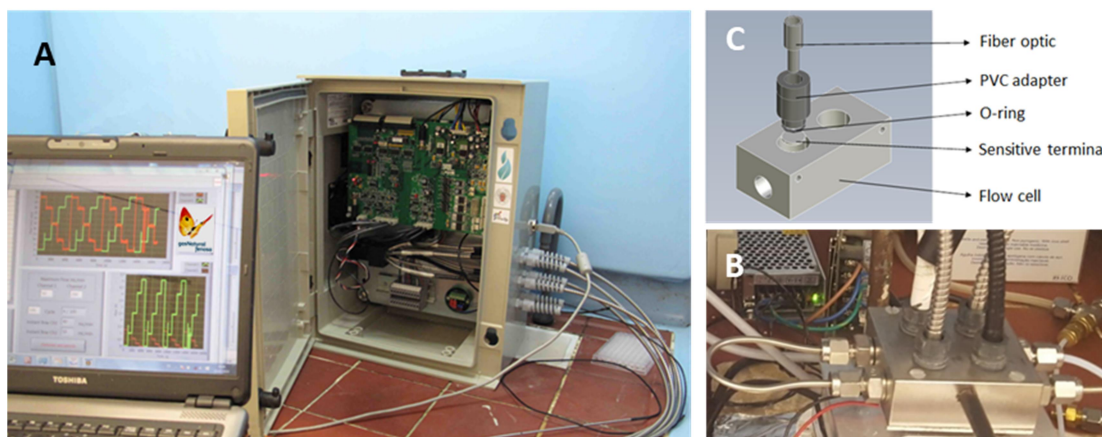
UV-vis absorption spectra were recorded with a Varian Cary 3Bio spectrophotometer (Palo Alto, CA). Steady-state luminescence spectra in solution were recorded with a FluoroSENS spectrofluorometer (Gilden, Glasgow, UK), fitted with a red-extended response Hamamatsu R928 photomultiplier. Emission lifetimes of the indicator dyes in solution were determined by single-photon-timing (SPT) using a FluoroMax-4TCSPC spectrofluorometer (Horiba, NJ), equipped with a pulsed NanoLED 470LH blue laser diode (463 nm,  $< 1$  ns FWHM), an Ortec 416A delay generator, and a Hamamatsu R928P photomultiplier. A 467-nm bandpass interference filter (Chroma) was used to polish the laser diode blue emission, while the luminescence was monitored through a 550 + 570 nm long-pass filter combination (CVI Laser Optics). All spectroscopic measurements in solution were carried out in 10 x 10 mm Suprasil cells with PTFE stopper (Hellma) or 10 x 10 mm Suprasil cells with quartz-to-glass graded seal neck (Hellma) fitted with a Rotaflo high-vacuum stopcock (Fisher Scientific), which ensures enough tightness during measurements in the absence of oxygen.

Luminescence spectra and emission lifetimes of the sensing layers were obtained in an Edinburgh Instruments FLS980-Xd2-T Photoluminescence Spectrometer, equipped with the 470LH blue laser diode, the 467-nm bandpass interference filter, and a 500 nm-blazed double monochromator in the emission channel. Luminescence from the sensing layers was detected with a Hamamatsu R928P photomultiplier, thermoelectrically cooled at  $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Emission lifetimes of the sensing layers, measured in the MCS mode, were extracted from the multiexponential decay data (1024 channels;  $I(t) = I_0 + \sum_i A_i e^{-t/\tau_i}$ ) by using a non-linear Marquardt fitting algorithm contained in the original software package (v 1.4.4). The minimum number of summed exponentials (typically three) were used to achieve a reduced  $\chi^2$  value of the fit lower than 1.30. Additionally, the so-called “pre-exponentially weighted” average lifetime ( $\tau_m$ , E 2) was calculated from the parameters of the fit, where  $\alpha_i = A_i / \sum_i A_i$ .

$$\tau_m = \sum_i \alpha_i \tau_i \quad (\text{E } 2)$$

Phase-sensitive monitoring was carried out with a field-deployable fiberoptic phase-sensitive luminometer developed in our research group.<sup>28</sup> The OSA Optical Sensor System instrument is able to determine simultaneously up to four target parameters (e.g. O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>), or a single parameter in different locations, using common electronic and optoelectronic components but specific Ru(II) polypyridyls immobilized in tailored polymer supports. The OSA system comprised two parts (Figure 2): the optoelectronic unit and the sensors module (including the flow-through cell), connected to each other by 0.91 m bifurcated borosilicate glass optical fiber bundles, with a fiber bundle diameter of 3.2 mm at the common end (Rockwell Automation, Milwaukee, WI). The system is equipped with four 470 nm LEDs (9600 mcd, RS Amidata, Madrid, Spain) as excitation light sources, digitally modulated at 39, 78 or 156 KHz (user selectable). The optical module contains a 450 nm CS5-60 colored band-pass filter (100 nm FWHM) (Schott, Mainz, Germany) in the excitation channel and a 570 nm (OG570 Schott) in the emission channel. The luminescence from the four sensitive terminals is monitored with a H11901-01 compact photomultiplier (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, JP). The reference signal is obtained directly from the excitation blue LEDs with one Vishay BPW24R (RS Amidata) photodiode per optical channel. The instrument configuration and data are stored in the OSA Optical Sensor System unit and can be transferred at any time to and from a laptop computer via the RS232 or USB ports, using a Windows-based software. Remote two-channel temperature (LM335Z type,  $-40$  to  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) data were also collected by the system to correct the sensor response for temperature effects (room and device temperature). Additionally, the OSA unit controls a home-made thermostatic system based on a Peltier cell, a ventilated

heatsink, a thermal insulator and a Pt-100 probe, working in the 5–50 °C temperature range (precision of  $\pm 0.2$  °C).



**Figure 2.** OSA optoelectronic unit (A), optical fibers and 4-sensor manifold (B) developed in our research group for this work. Panel C depicts the exploded view of the individual sensor module components.

The sensor module was a home-made 4-channel stainless steel flow cell, enabling the assembly of up to four analyte-specific terminals. In each channel, a sensitive layer is placed over a 400-mesh nylon sieve (equivalent to 37  $\mu\text{m}$ , Filtra Vibración, Barcelona, Spain) and covered with a plastic optical window (1 x 10 mm, LasIRvis Optoelectronic Components, Cornwall, UK). An acrylonitrile-butadiene O-ring (7.0 x 1.5 mm) and a PVC adapter screw fixes the sensitive layer to the measuring cell, ensuring the required gas tightness. Finally, 1/8" stainless steel tubes are connected to the inlet and outlet of the flow cell, through which calibration and sample gases are circulated.

All standards used for calibration of the sensing layers were prepared using a gas mixing system (PID Eng&Tech, Alcobendas, Spain), consisting of 3 electronic mass flow controllers (Bronkhorst F-211CV, Ruurlo, The Netherlands) with maximum flows of 20, 50 and 300 mL  $\text{min}^{-1}$  respectively, which are controlled with a Toshiba Satellite Pro C660 laptop using the Process@ v2.2.1.0 software (PID Eng&Tech).

For the in situ  $\text{O}_2$  measurements in the biomethane production plant, a flow and pressure control system was additionally employed (Figure S1 of the Supplementary material). It consists of a 3-way valve that enables selection of either the biomethane sample or the calibration gas, a needle valve to control the gas flow (which is measured by a rotameter) located just after the needle valve and before the flow cell, and a backpressure regulator placed at the system outlet to fix the target pressure (up to 2.5 bar over the atmospheric pressure).

### ***1.2.3. Sensing layer preparation***

To a suspension of 20 mg of solid support in 2.5 mL of acetonitrile, the appropriate volume ( $\mu\text{L}$ ) of the stock solution containing the indicator dye (ca.  $2 \times 10^{-4}$  M) was added under stirring. After further 10 min without stirring, the solvent was evaporated under reduced pressure. Finally, sintered disks were prepared from the luminescent powder, using a 5-mm dia. stainless steel die (Apollo Scientific, UK) and a hydraulic press (Specac) at a maximum pressure of 2 t  $\text{cm}^{-2}$ .

### ***1.2.4. Measuring procedures***

#### ***1.2.4.1. Spectroscopic and photophysical characterization of the luminescent probes in solution***

All measurements were performed in air (20.9% of O<sub>2</sub>) and under N<sub>2</sub>. Samples were deoxygenated by sparging the solutions with ultrapure N<sub>2</sub> (+99.9999%) at 5 mL min<sup>-1</sup> during 20 min through a stainless steel needle. Luminescence quantum yields were referenced to tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) in acetonitrile (0.018 in air and 0.095 in pure N<sub>2</sub>).<sup>29</sup>

#### ***1.2.4.2. Spectroscopic and photophysical characterization of the sensing layers***

The luminescent sensing films were placed on 26 x 12 x 1 mm microscope slides and covered with the 400-mesh nylon sieve; this set was introduced into a disposable 10 x 10 mm PMMA fluorescence cell and capped with a rubber septum (Sigma-Aldrich). Steady-state and time-resolved luminescence measurements were performed under either ultrapure N<sub>2</sub> or 153.2 ppmv of O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub> by sparging the solution at 50 mL min<sup>-1</sup> during 30 min and over the entire collection time.

#### ***1.2.4.3. Calibration and analytical characterization of the sensing layers***

The sensing layers response was evaluated in the laboratory at two different O<sub>2</sub> concentrations ranges, namely 0–100.5 and 0–10000 ppmv (equivalent to 1%), in the flow-through measuring cell and with the gas mixing system described above, using 1/8'' (o. d.) stainless steel tubes. All measurements were performed at atmospheric pressure and controlled temperature ( $15.0 \pm 0.2$  °C) using the thermoelectric system described above to provide optimum stabilization.



#### 1.2.4.4. Installation of the O<sub>2</sub> sensor system in the biomethane production plant

The luminescent sensors were installed in the “Guadalete” wastewater treatment plant (WWTP) in Jerez de la Frontera (Spain), where biogas is being produced by the anaerobic fermentation of the WWTP sewage sludge. The subsequent upgrading process generates an automotive-grade biomethane, which is compressed to 250 bar and stored in gas cylinders for its final use as vehicle fuel (Figure S2). The biomethane sampling line is placed just after the gas compression process and before the storage system. A pressure reducer to 2 bar is installed at the inlet. The gas sampling line consists of a 1/4” stainless steel tube, directly connected to the OSA Optical Sensor System sensor module described above (section 1.2.2). The sampling line configuration enables *continuous* O<sub>2</sub> monitoring in the gas stream coming from either the production plant (operating 9–17 h during working days) or the biomethane gas storage cylinders (when the plant is shut down).

The sensing membranes employed *in situ* were manufactured in the laboratory and a two-point calibration (0 and 153.2 ppmv O<sub>2</sub>) was carried out before their deployment. Once installed, all measurements were carried out at atmospheric pressure, with a 100 mL min<sup>-1</sup> flow and temperature monitoring to automatically correct the sensor response for temperature effects.

### 1.3. Results and discussion

#### 1.3.1. Selected indicator dyes

Ru(II)-polypyridyl O<sub>2</sub> indicator dyes enable a fine tuning of their (photo)physical and (photo)chemical properties through a judicious modification of the heterocyclic chelating ligands of the complex.<sup>18</sup> For instance, attachment of pyrenyl moieties to their ligands allows a huge increase of their luminescence lifetime (from a few  $\mu$ s up to hundreds of  $\mu$ s), so that they exhibit a high O<sub>2</sub> sensitivity in solution.<sup>30–33</sup> However, the scarce number of studies published with those dyes immobilized in solid supports did not show the expected O<sub>2</sub> sensing properties,<sup>34</sup> probably due to their inability to reach the appropriate conformation to equilibrate their <sup>3</sup>MLCT state and the pyrene-centered <sup>3</sup> $\pi$ - $\pi^*$  triplet state required to prolong the emission lifetime of Ru(II) polypyridyls. Moreover, the poor stability of pyrene to the attack of singlet molecular oxygen, a reactive oxygen species abundantly generated by Ru(II) polypyridyls,<sup>35</sup> will severely compromise the sensor operational lifetime. Therefore, we selected and prepared the popular RD3<sup>17</sup> and the much less known RB3<sup>36</sup> complexes (Figure 1) bearing extended  $\pi$ -conjugation in their polyazaheteroaromatic chelating ligands, so as to increase the lifetime of their emissive ligand-centered triplet excited state with respect to the parent (unsubstituted) tris(1,10-phenanthroline)ruthenium(II) dye.



### 1.3.2. Spectroscopic characterization of the indicator dyes

Preliminary absorption, luminescence intensity and lifetime measurements of the indicator dyes were carried out in acetonitrile to verify their suitability-to-purpose (Table 1). As members of the Ru(II) polypyridyls family, RD3 and RB3 complexes show a broad absorption band in the visible region of the spectra, assigned to a spin-allowed d- $\pi^*$  metal-to-ligand charge transfer (MLCT) transition. When excited at any wavelength of their absorption spectrum, an intense red emission is observed due to the deactivation of the <sup>3</sup>MLCT state, originated by a fast intersystem crossing from the initial <sup>1</sup>MLCT excited state reached upon absorption of light.<sup>37</sup> Higher luminescence lifetime and quantum yield were found for RB3 compared to RD3. A similar result was observed in ethanol-methanol 4:1 (v/v) solution at 20 °C,<sup>36</sup> not surprising considering the very small effect of the solvent polarity on these complexes.<sup>33</sup> The more extended  $\pi$ -conjugation in the chelating structure of the bis(biphenyl) (B) ligand provides a more effective delocalization of the ligand-centered excited electron, resulting in a decrease of the non-radiative relaxation kinetic constant and thus, increased emission lifetime. The long excited state lifetime of the RD3 and RB3 complexes will ensure a remarkable sensitivity to O<sub>2</sub> that is expected to increase upon immobilization of the indicator dyes.

**Table 1.** Spectroscopic and photophysical data of the O<sub>2</sub> indicator dyes in acetonitrile solution.

	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ (nm) <sup>a</sup>	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ (nm) <sup>a</sup>	$\tau^{\text{b,d}}$ ( $\mu\text{s}$ )	$\tau^{\text{c,d}}$ ( $\mu\text{s}$ )	$\Phi^{\text{b,e}}$	$\Phi^{\text{c,e}}$
RD3	462	618	0.179 $\pm$ 0.002	5.4 $\pm$ 0.2	0.014 $\pm$ 0.001	0.404 $\pm$ 0.005
RB3	463	619	0.207 $\pm$ 0.002	6.8 $\pm$ 0.1	0.0141 $\pm$ 0.0006	0.43 $\pm$ 0.01

<sup>a</sup> Uncertainty:  $\pm$  1 nm. <sup>b</sup> In air. <sup>c</sup> In N<sub>2</sub>. <sup>d</sup> Luminescence lifetime ( $\tau$ ) ( $\lambda_{\text{exc}}$  = 463 nm;  $\lambda_{\text{em}}$  = 610 nm) measured by SPT,  $n$  = 4. <sup>e</sup> Luminescence quantum yield ( $\Phi$ ) measured upon excitation at 460 nm,  $n$  = 4. At 25  $\pm$  2 °C and atmospheric pressure of 698–713 Torr. Confidence intervals  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level),  $n$  = 4.

### 1.3.3. Sensitive layer optimization

Sensitive layer components were optimized for best operation of the O<sub>2</sub> optode in terms of sensitivity, selectivity, response time and sturdiness. For that purpose, different luminescent sensor materials comprising the solid-supported indicator dye, were prepared and their performance evaluated from the emission phase shift data (proportional to the emission lifetime, see Experimental section) as a function of the O<sub>2</sub> partial pressure.

#### 1.3.3.1. Effect of the solid support

An adequate design and development of a sensitive O<sub>2</sub> luminescent sensor does not only rely on the use of a long lifetime indicator dye, but it also depends strongly on the appropriate selection of the solid support. Silica-based inorganic supports are known for its good adsorbing properties of both the indicator dyes and the analytes, chemical inertia, and fast diffusion of

gases into the pores.<sup>38</sup> Co-adsorption enhances the O<sub>2</sub> quenching of the photoexcited Ru(II) complex due to local concentration and reduced dimensionality (fractal) effects.<sup>16</sup> A wide variety of siliceous-based supports can be found in the market, with different particle size and polarity depending on its preparation procedure and further surface functionalization. In this work we have tested an untreated hydrophilic pyrogenic silica powder (7 nm primary size in 100–200 nm agglomerates) with surface silanol groups (S-5130), a hexamethyldisilazane-treated hydrophobic pyrogenic silica powder (40  $\mu$ m), with surface 1,1,1-trimethyl-*N*-(trimethylsilyl)-silalamine groups (R812), and benzenesulfonic acid-functionalized porous glass beads (50  $\mu$ m), a strong cation-exchange surface group (SCX).

With the aim of studying the effect of the siliceous support on the spectral features and sensitivity of the immobilized indicator dyes, the absorption, luminescence intensity and lifetimes of the different O<sub>2</sub>-sensitive materials were recorded in the presence (153.2 ppmv O<sub>2</sub>) and in the absence (highly pure N<sub>2</sub>) of the analyte (Table 2). A typical example of the spectroscopic features and emission decay of the silica-supported indicator dyes is depicted in Figure S3.

**Table 2.** Luminescence data of the O<sub>2</sub> indicator dyes on different siliceous supports.

		$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ (nm) <sup>a</sup>	$\tau_{\text{m}}^0$ ( $\mu$ s) <sup>b,c</sup>	$\tau_{\text{m}}$ ( $\mu$ s) <sup>b,d</sup>	$\tau_{\text{m}}^0/\tau_{\text{m}}$ <sup>e</sup>
	S-5130	617	6.82 $\pm$ 0.02	6.19 $\pm$ 0.01	1.102 (0.002)
RD3	SCX	610	7.61 $\pm$ 0.03	6.98 $\pm$ 0.02	1.090 (0.003)
	R812	617	8.18 $\pm$ 0.01	7.61 $\pm$ 0.03	1.075 (0.002)
	S-5130	626	7.63 $\pm$ 0.02	6.81 $\pm$ 0.03	1.120 (0.003)
RB3	SCX	618	8.02 $\pm$ 0.02	7.23 $\pm$ 0.03	1.109 (0.003)
	R812	627	10.07 $\pm$ 0.02	9.46 $\pm$ 0.04	1.064 (0.003)

<sup>a</sup> Uncertainty:  $\pm 1$  nm. <sup>b</sup> Pre-exponentially weighted emission lifetime ( $\tau_{\text{m}}$ ), at (25.0  $\pm$  0.1) °C; confidence intervals  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level),  $n = 3$ . <sup>c</sup> In high purity N<sub>2</sub>. <sup>d</sup> In 153.2 ppmv O<sub>2</sub>. <sup>e</sup> Values in parenthesis are the standard deviation ( $s_{n-1}$ ) of the measurements.

In all the sensing membranes tested, 3-exponential decay functions were required to fit the experimental data even in the absence of quencher. This result reveals the presence of multiple microdomains around the photoexcited indicator dye molecules, probably also with different accessibility to the O<sub>2</sub>. The 3-exponential decay functions do not correspond to the presence of a discrete number of luminescent species, but rather to a distribution of three luminophore populations of different widths centered at particular lifetimes.<sup>39</sup>

The RB3-based membranes exhibit longer emission lifetimes compared to the RD3-based sensing films, due to the more extended  $\pi$ -conjugation of their chelating ligands, as it was discussed above (section 1.3.2). Moreover, different emission lifetimes and sensitivities of the

O<sub>2</sub> sensing films were found depending on the solid support. Generally, as it has been described in the literature,<sup>40</sup> the more polar the environment, the longer the lifetime of the dye. However, our results show the opposite trend: the indicator dyes immobilized on the most hydrophilic support (S-5130) displayed the shortest luminescence lifetime regardless the O<sub>2</sub> level. This result must be attributed to self-quenching of the long-lived (hydrophobic) photoexcited dye, which forms aggregates on the hydrophilic surfaces of the solid support.<sup>39</sup> With regard to the O<sub>2</sub> sensitivity and according to the Stern-Volmer equation (E 1), the higher the measured  $\tau_m^0/\tau_m$  ratio, the steeper the slope of the dose-response plot. In this way, the S-5130 hydrophilic silica conferred the best sensitivity to the sensing layers, closely followed by the SCX-based sensing materials. The R812 hydrophobic silica was the worst support in terms of the analytical characteristics. The strongest adsorption of molecular O<sub>2</sub> onto the hydrophilic silica, as well as its much larger surface area due to its nm size, enhance the sensitivity of these membranes.

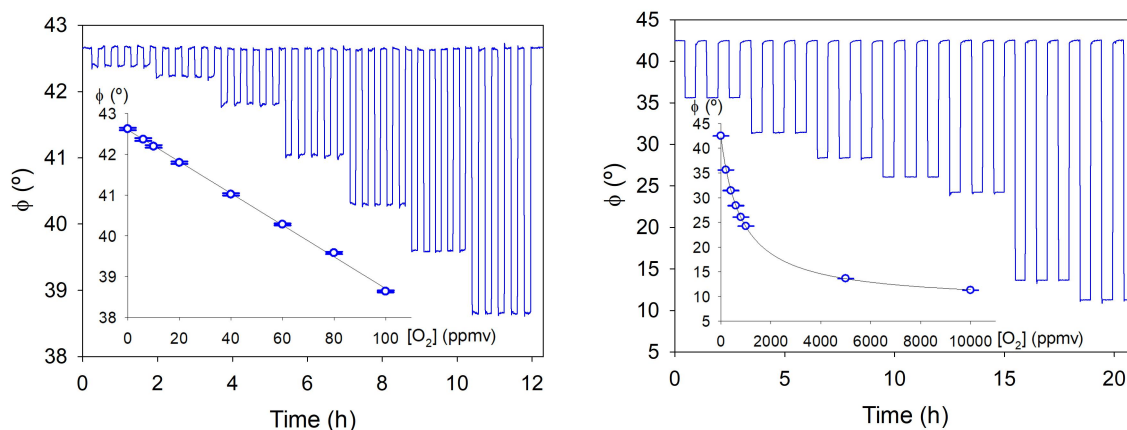
Additionally, the response characteristics of the sensitive layers were confirmed with the OSA Optical Sensor System in terms of the phase shift excursion ( $\Delta\phi_{0-70.3}$ ) for the 0–70.3 ppmv O<sub>2</sub> concentration range (Table S3 of the Supplementary material). Nevertheless, the response ( $t_{90}$ ) and recovery times ( $t_{-90}$ ) for all the sensor materials were identical (< 30 s), indicating that it is limited by the instrument data averaging process. As far as the robustness of the sensor disks is concerned, those manufactured by sintering S-5130 silica gel turned out to be the most sturdy ones, being the SCX-based disks the most fragile. Therefore, we selected the S-5130 silica for all the subsequent developments. Micrographs of the sintered sensor disks produced with the latter material showing their luminescence homogeneity are depicted in Figure S4.

#### 1.3.3.2. Effect of the indicator dye concentration

The Ru(II) luminescent indicator concentration on the sensing material is of utmost importance considering that a high amount of indicator molecules can produce aggregation, causing excited state self-quenching, while low levels of the dye yield poor signal-to-noise ratios. Therefore, an optimum concentration has to be found in order to get the best sensing properties. Therefore, different concentrations of the indicator dye in S-5130 silica were tested with the results depicted in Figure S5. For the RD3 indicator dye, the selected concentration was 0.9  $\mu\text{mol}$  (1.2 mg) per gram of solid support and, in the case of RB3, the best sensitivity was reached for 1.2  $\mu\text{mol}$  (2.0 mg) per gram of silica.

### 1.3.4. Analytical characterization

Considering the current European biomethane specifications, which set two different maximum O<sub>2</sub> limits,<sup>9</sup> the novel luminescent sensing materials were calibrated in two different O<sub>2</sub> ranges: 0–100.5 ppmv and 0–10000 ppmv (1%). Figure 3 depicts the response function and corresponding calibration plots for the RB3/S-5130 sensor layer in both ranges (the RD3/S-5130 response is shown in Figure S6 of the Supplementary material and Stern-Volmer plots for RD3 and RB3 are shown in Figure S7).



**Figure 1.** RB3/S-5130 luminescent O<sub>2</sub> sensor responses and corresponding calibration plots at different O<sub>2</sub> concentrations (50 mL min<sup>-1</sup> gas flow, (15.0 ± 0.2) °C, 39 kHz modulation frequency). Confidence intervals  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level).

As it was expected, the luminescent O<sub>2</sub> sensors response was non-linear in the wider range. The response and calibration obtained from the linear range (0–153.2 ppmv) were employed for the subsequent thorough analytical characterization. Equation (E 3) was used to extract the calibration curve from the experimental points, where  $\phi_0(^{\circ})$  and  $\phi(^{\circ})$  are the emission phase shifts in the absence and in the presence of O<sub>2</sub> (ppmv), respectively, and  $m (^{\circ} \text{ ppmv}^{-1})$  is the slope of the calibration plot depicted.

$$\phi = \phi_0 + m[\text{O}_2] \quad (\text{E } 3)$$

The 0–100.5 ppmv calibration plots showed excellent linear response ( $r^2 \geq 0.999$ ). The forward and reverse response times of the optodes, expressed as  $t_{90}$  and  $t_{-90}$  respectively, were shorter than 30 s for all 0-x step changes. The limit of detection (LOD) of the O<sub>2</sub> sensors, based on three times the standard deviation of 35 samples of 0 ppmv O<sub>2</sub>, and the limit of quantification (LOQ), based on ten times the standard deviation of 35 samples of 0 ppmv O<sub>2</sub>, are collected in Table 3. The sensitivity of both optodes meets the legal requirements. Nevertheless, slightly lower LOD and LOQ were found for the RB3/S-5130 compared to the RD3/S-5130 sensor.

**Table 3.** Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the O<sub>2</sub> optodes.

	LOD <sup>a</sup> (ppmv)	LOQ <sup>a</sup> (ppmv)
RD3	1.4 ± 0.6	5 ± 2
RB3	1.0 ± 0.3	3 ± 1

<sup>a</sup> Determined for three calibration plots of the same sensing film at (15.0 ± 0.2) °C. Confidence intervals  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level).

The optodes precision was evaluated in terms of repeatability and reproducibility. For repeatability studies, seven different O<sub>2</sub> concentrations (0, 6.0, 10.1, 20.1, 40.2, 60.3 and 100.5 ppmv) were measured five times each consecutively using the same sensitive layer. The relative standard deviation (RSD) obtained (Table S4) showed good repeatability of the measurements (equivalent to less than ± 0.01° emission phase shift difference between measurements).

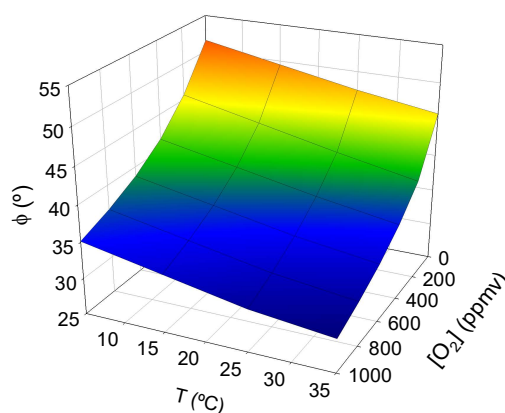
For evaluation of the reproducibility, calibration plots of different sensing layers were obtained in the same O<sub>2</sub> concentration range (0–100.5 ppmv) and compared in order to estimate the dispersion of the results introduced by the different sources of variability. Firstly, the influence of the installation process was evaluated by installing and uninstalling a particular sensing layer daily for five days. Additionally, the reproducibility of the sensing layers fabrication was also studied by preparing three different batches of three layers each one. The homogeneity of those sensors was evaluated within a particular batch and between the three different batches. The results are summarized in Table S5. Reproducibility of the sensor data was evaluated in terms of the RSD of the slopes obtained from the calibration plots, so that the degree of agreement of the measurements could be estimated. As it was expected, higher dispersion was introduced by the fabrication process (> 6.5%) than by the installation process (> 1.3%). Interestingly, no differences in the reproducibility were observed for sensing layers belonging to a particular batch or taken from different batches. The O<sub>2</sub> sensing materials were kept for at least one year in gas-tight opaque containers without variation of their performance. Finally, the effect of temperature on the luminescent O<sub>2</sub> sensors was investigated in the 5–35 °C range. Four different calibration plots were obtained for four different temperatures (5, 15, 25 and 35 °C) in the 0–122.6 ppmv O<sub>2</sub> concentration range (Table 4).

**Table 4.** Temperature dependency of the luminescent O<sub>2</sub> sensors RB3/S-5130 and RD3/S-5130.

<i>T</i> (°C)	RD3/S-5130		RB3/S-5130	
	$\phi^a$ (°)	$m^b$ (°/ppmv) <sup>c</sup>	$\phi^a$ (°)	$m^b$ (°/ppmv) <sup>c</sup>
5	44.16 ± 0.01	−0.0376 (0.0005)	41.40 ± 0.02	−0.0401 (0.0007)
15	41.49 ± 0.01	−0.0330 (0.0005)	39.61 ± 0.01	−0.0355 (0.0006)
25	39.40 ± 0.02	−0.0261 (0.0006)	37.93 ± 0.01	−0.0292 (0.0005)
35	37.43 ± 0.02	−0.0208 (0.0005)	36.14 ± 0.01	−0.0238 (0.0004)

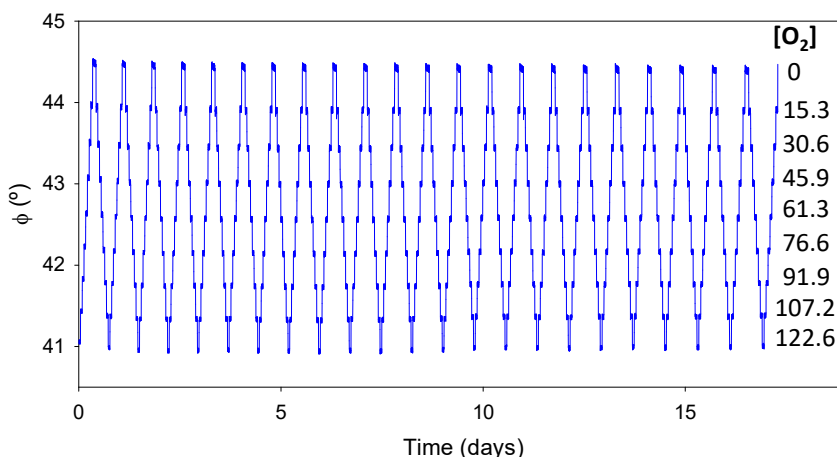
<sup>a</sup>  $\phi_0$ (°) is the luminescence phase shift obtained in the absence of analyte (pure N<sub>2</sub>). <sup>b</sup>  $m$  is the slope of the calibration plot obtained in each experiment. Confidence intervals  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level),  $n = 3$ . <sup>c</sup> Values in parenthesis are the standard deviation ( $s_{n-1}$ ) of the measurements.

From the obtained results, a decrease of both the luminescence lifetime and the sensitivity was observed with increasing temperature. As the temperature rises, so does the probability of an electron in the <sup>3</sup>MLCT excited state to be promoted to a close-lying metal-centered (<sup>3</sup>MC) state,<sup>41</sup> with subsequent decay of this electron to the ground state through a non-radiative process. Enhanced adsorption of the analyte on the sensitive layer may be responsible for the higher sensitivity observed at lower temperatures. The temperature-dependent calibration plots for the RB3/S-5130 and RD3/S-5130 sensors are depicted in Figure 4 and Figure S8 of the Supplementary material, respectively.

**Figure 4.** Calibration plot of the RB3/S-5130 luminescent O<sub>2</sub> sensor in the 0–1000 ppmv O<sub>2</sub> range at different temperatures (50 mL min<sup>−1</sup> gas flow rate; 39 kHz modulation frequency).

### 1.3.5. Long-term stability

The response of the O<sub>2</sub>-sensitive layers was evaluated over eighteen days demonstrating an excellent stability over time (Figure 5; the RD3/S-5130 sensor response is shown in Figure S9 of the Supplementary material).



**Figure 2.** Long-term readings of the RB3/S-5130 luminescent sensor in the 0–122.6 ppmv O<sub>2</sub> concentration range (50 mL min<sup>-1</sup> gas flow rate, at 15 °C and 39 kHz modulation frequency).

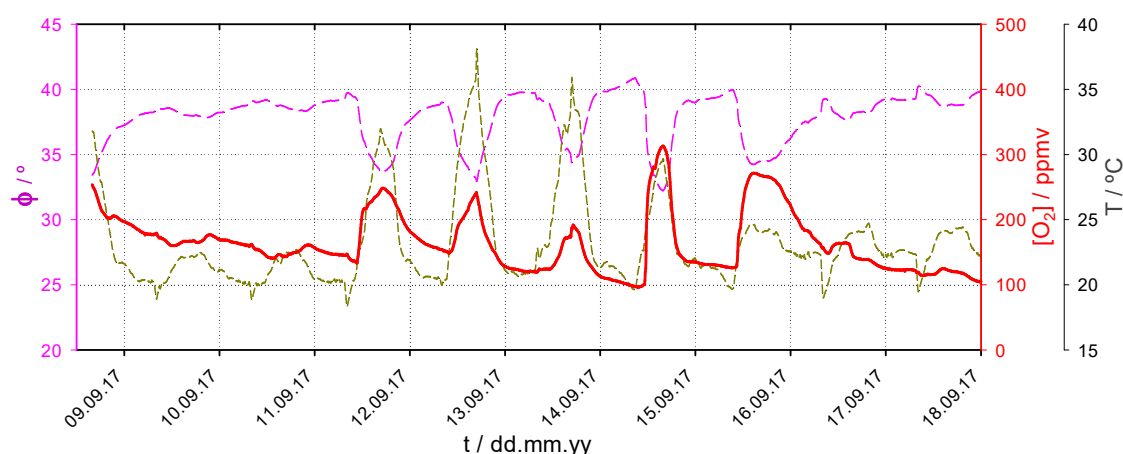
### 1.3.6. Response to potentially interfering gases

The sensor response to relevant gases, usually present in biomethane, was investigated. For that purpose, the response of the O<sub>2</sub> sensor films to 50.5 ppmv of ammonia (NH<sub>3</sub>), 10.1 ppmv hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) or 20.0 ppmv methylmercaptan (CH<sub>3</sub>SH) was evaluated. These concentrations are 2–4 times the maximum allowed levels of those species in biomethane<sup>6</sup> and correspond to the certified concentrations of the calibration gas mixtures we have used. No interference from these species was observed at the evaluated concentrations (Figure S10 of the Supplementary material). Moreover, the O<sub>2</sub> readings in nitrogen gas, methane, or in synthetic biomethane were identical, so that methane (89.6% by volume), CO (2% by volume), CO<sub>2</sub> (3% by volume), H<sub>2</sub> (5% by volume), benzene (100 ppmv), toluene (100 ppmv) and xylene (100 ppmv) are not interfering gases either. Additionally, taking into account that EN 16723-1 and -2 require biomethane to contain less than 74 and 29 ppmv water vapor respectively at standard conditions, we tested and found that 100 ppmv water vapor had no effect on the sensor response.

### 1.3.7. Application of the luminescent sensor to real-time O<sub>2</sub> monitoring in a biomethane production plant

As it is described in section 1.2.4.4, the O<sub>2</sub> sensor system was installed at a biomethane production plant in southern Spain, where O<sub>2</sub> was continuously monitored during more than six months, acquiring the cell temperature and luminescence phase shift data every 6 min. From those values, the O<sub>2</sub> concentration was automatically calculated by means of a linear interpolation in the general calibration function (Figure 4). Figure 6 shows the luminescence phase shift and temperature values measured over 10 days, as well as the O<sub>2</sub> concentration in the

generated biomethane calculated thereof. We can observe that the highest O<sub>2</sub> levels are reached at the end of the 8-h operation period of the plant in labor days (the plant is not operated during the weekends). Between the operation cycles, the measurements correspond to the biomethane gas stemming from the storage cylinders. Although, the OSA Optical Sensor System was placed in an air-conditioned booth, its door remained opened during the plant operating hours, making it difficult to provide an adequate control of the temperature. Nevertheless, the O<sub>2</sub> data are always corrected for the actual temperature readings. The optical sensor system has demonstrated a stable response over a 10-day span; longer operation leads to a progressive loss of sensitivity that requires a (facile) exchange of the sensitive film. Taking into account that the luminescence quenching of the polymer-supported indicator dye by O<sub>2</sub> occurs on the surface of the silica adsorbent, co-adsorption of foreign substances is believed to be the main cause of the observed long-term signal drift (ca. 0.5 ppm day<sup>-1</sup>). Further work is in progress to increase the operational lifetime by investigating the causes of such instability, testing alternative polymer supports, and manufacturing composite membranes.



**Figure 6.** Continuous, real-time, in situ monitoring along a representative 10-day span, of the O<sub>2</sub> contents in the biomethane of a production plant for vehicle consumption. Red solid line: temperature-corrected O<sub>2</sub> concentration; magenta long-dashed line: luminescence phase shift; grey short-dashed line: temperature at the sensor site.

## 1.4. Conclusions

Luminescent oxygen monitoring may be a superior alternative to existing portable GC, electrochemical and paramagnetic monitors for in situ, real-time continuous monitoring of this important chemical species in biomethane generation plants. Their advantage relies on molecular engineering of the indicator dye, high sensitivity and selectivity to the analyte, four orders of magnitude dynamic range, ease of fabrication, low operation and maintenance costs, and ruggedness, all of it at an affordable cost. Nevertheless, the long-term limited stability of the current sensitive terminals, a problem that plagues the existing devices for continuous in situ



measurements, must still be improved to achieve usable optical sensors. Other applications of the built sensor such as O<sub>2</sub> determination in natural gas or in ultrapure gases are being explored to demonstrate the versatility of the system. Moreover, the rich tunable photochemistry of the luminescent Ru(II) indicator dyes should allow the development of other optical sensing films for biomethane quality evaluation capitalizing on fiber-optic multichannel optoelectronics.

## 1.5. Supplementary material

### 1.5.1. Tables

**Table S1.** A representative selection of phosphorescent sensors for O<sub>2</sub> trace measurements in the gas phase.

Indicator dye	Host polymer	Measurement range (ppmv)	LOD (ppmv)	Photostability	Ref.
<sup>13</sup> C <sub>70</sub> fullerene	Polystyrene		0.53		
	Ethylcellulose	0–150	0.25	High	[42]
	Ormosil		0.32		
BF2(HBAN) (chelate with 6-hydroxy-benz[de]anthracene-7-on)	Polystyrene	0–100	0.045	Low	[43]
Al(HPhNPF) <sub>3</sub> (chelate with 9-hydroxyphenalenone)	Hyflon AD 60	0–100	0.010	Good	[45]
Al(HBANPF) <sub>3</sub> (chelate with 6-hydroxy-benz[de]anthracenen-7-on)	Teflon AF 1600	0–100	0.005	Good	[45]
PtTFPP (porphyrin)	Silica gel beads in silicone	0–9869	2.4	High	[44]
PdTFPP (porphyrin)	Silica gel beads in silicone	0–987	0.015	High	[46]
RD3	Silica nanoparticles	0–10 <sup>6</sup>	180	n.d.	[23]
I <sub>2</sub> -BODIPY	Polypropylene	0–2 × 10 <sup>5</sup>	200	Good	[45]
Ir(III) cyclometallated	Ethyl cellulose	0–10000	n.d.	Fair/Good	[46]
RB3	Silica gel	0–10000	1.0	High	<i>This work</i>
RD3	Silica gel	0–10000	1.4	High	<i>This work</i>

**Table S2.** Certified concentration of the analyte gas in its binary mixture with N<sub>2</sub> in the purchased gas cylinders ( $U$  is the uncertainty value using a coverage factor of 2 which provides a confidence level of ca. 95%).

	Nominal value (ppmv)	Actual value (ppmv)	$U$ (%)
O <sub>2</sub>	100.0	100.5	± 3
O <sub>2</sub>	150.0	153.2	± 3
NH <sub>3</sub>	50.0	50.5	± 3
H <sub>2</sub> S	50.0	50.5	± 3
CH <sub>3</sub> SH	100.0	100.2	± 5

**Table S3.** Luminescence phase shift ( $\phi_0$ ) and 0–70.3 ppmv excursion ( $\Delta\phi_{0-70}$ ) of the O<sub>2</sub>-sensitive layers as a function of the solid support used.

Solid support	RD3		RB3	
	$\phi_0$ (°) <sup>a,b</sup>	$\Delta\phi_{0-70}$ (°) <sup>b</sup>	$\phi_0$ (°) <sup>a,b</sup>	$\Delta\phi_{0-70}$ (°) <sup>b</sup>
S-5130	41.60 ± 0.04	2.37 ± 0.01	42.40 ± 0.03	2.54 ± 0.01
R812	46.99 ± 0.01	2.13 ± 0.02	47.67 ± 0.03	1.99 ± 0.01
SCX	48.63 ± 0.02	2.40 ± 0.02	48.21 ± 0.01	2.54 ± 0.01

<sup>a</sup> In the absence of analyte (i.e. pure N<sub>2</sub>). <sup>b</sup> Confidence intervals  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level);  $n = 3$ ; (15.0 ± 0.2) °C.

**Table S4.** Repeatability of the optodes measurements at various O<sub>2</sub> concentrations.

[O <sub>2</sub> ] <sub>T</sub> <sup>a</sup> (ppmv)	RD3		RB3	
	[O <sub>2</sub> ] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)	[O <sub>2</sub> ] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)
6.0	6.0	6.0	6.3	6.2
10.1	10.4	4.0	10.6	1.3
20.1	21.0	1.6	20.5	1.3
40.2	40.8	0.4	40.6	0.7
60.3	59.7	0.5	59.5	0.4
100.5	101.4	0.2	101.8	0.1

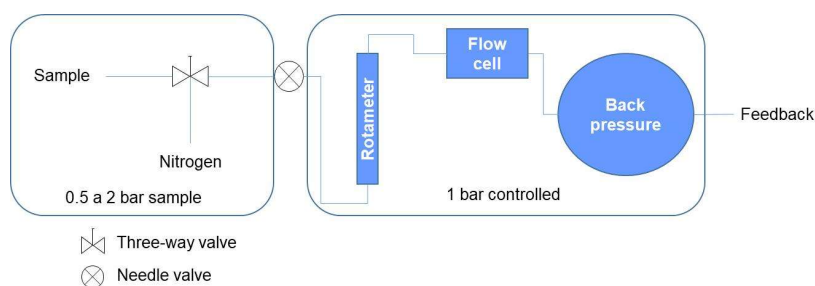
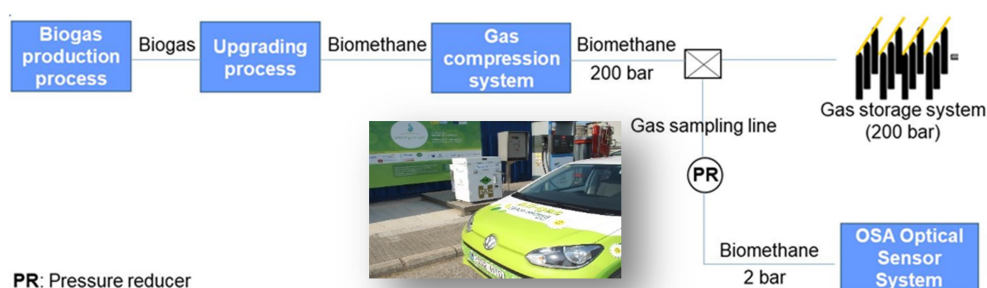
<sup>a</sup> [O<sub>2</sub>]<sub>T</sub> is the actual O<sub>2</sub> concentration (as per the manufacturer certificate of the 100.5 ppmv gas cylinders), prepared by the calibrated mass-flow controllers manifold. <sup>b</sup> [O<sub>2</sub>]<sub>exp</sub> is the mean of the O<sub>2</sub> concentrations obtained from the O<sub>2</sub> sensor readings. <sup>c</sup> RSD is the relative standard deviation ( $n = 5$ ) at (15.0 ± 0.2) °C.

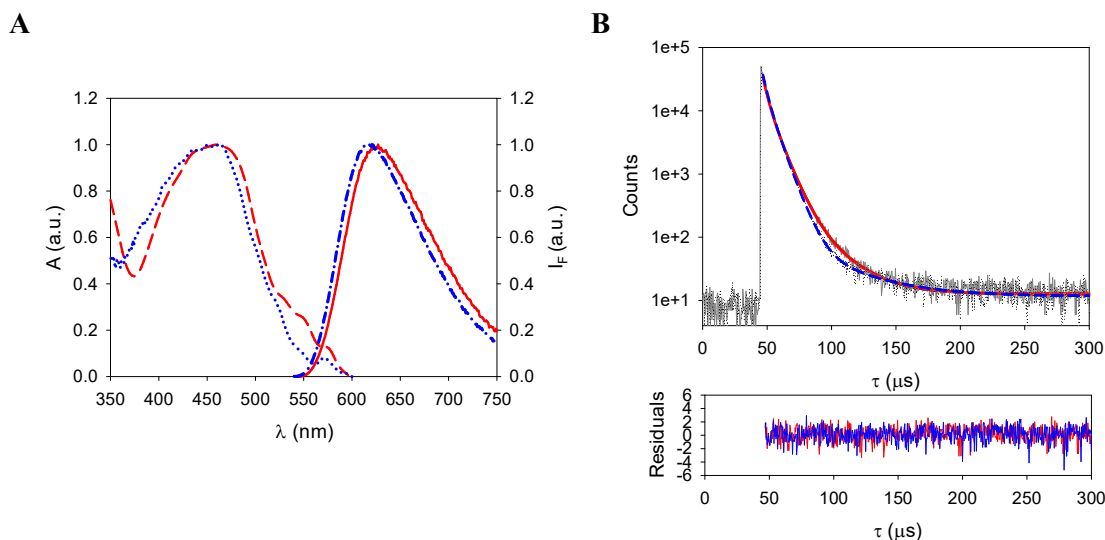
**Table S5.** Reproducibility of the optodes measurements at various O<sub>2</sub> concentrations.

	RD3		RB3		<i>n</i> <sup>c</sup>
	<i>m</i> <sup>a</sup>	RSD <sup>b</sup> (%)	<i>m</i> <sup>a</sup>	RSD <sup>b</sup> (%)	
Installation	−0.037	1.3	−0.037	1.3	5
Same batch	−0.039	4.7	−0.039	6.5	3
Different batches	−0.035	5.3	−0.037	6.5	3

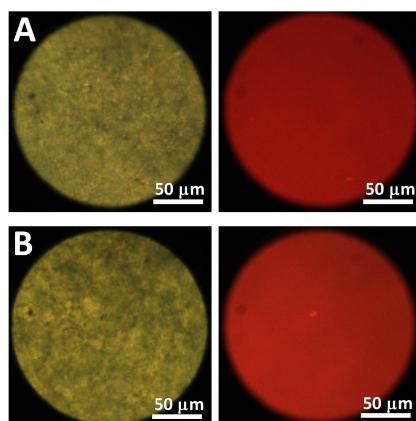
<sup>a</sup> *m* is the slope of the calibration plot obtained for each experiment. <sup>b</sup> RSD is the relative standard deviation. <sup>c</sup> *n* = number of measurements at (15.0 ± 0.2) °C.

### 1.5.2. Figures

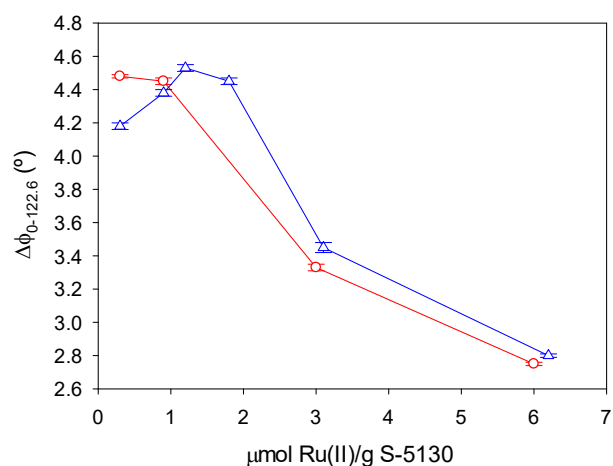

**Figure S1.** Scheme of the flow/pressure sample conditioning system used for O<sub>2</sub> monitoring in the biomethane production plant.

**Figure S2.** Biomethane production plant, storage system and sampling line diagram.



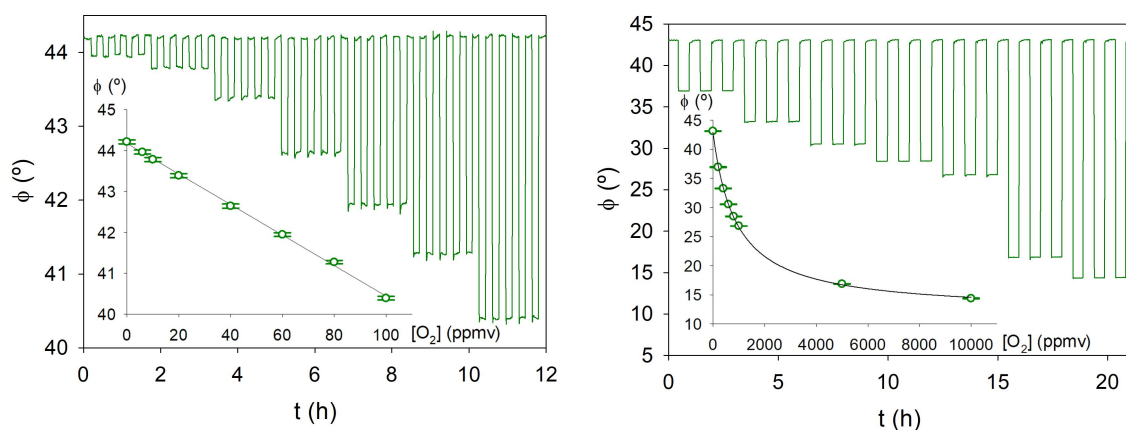
**Figure S3.** (A) Normalized absorption and luminescence spectra ( $\lambda_{\text{exc}} = 463$  nm) of the  $\text{O}_2$  indicator dyes immobilized on S-5130 silica, under pure  $\text{N}_2$ . RB3: red dashed line (absorption spectra) and red solid line (luminescence spectra). RD3: blue dotted line (absorption spectra) and blue dash dot line (emission spectra). (B) Luminescence decay of RB3 and RD3 supported on S-5130 silica; the solid lines represent the best fit of the experimental data to a tri-exponential decay function ( $\chi^2 < 1.02$ ), with the corresponding weighted residuals. RB3 (red solid line) and RD3 (blue dashed line).



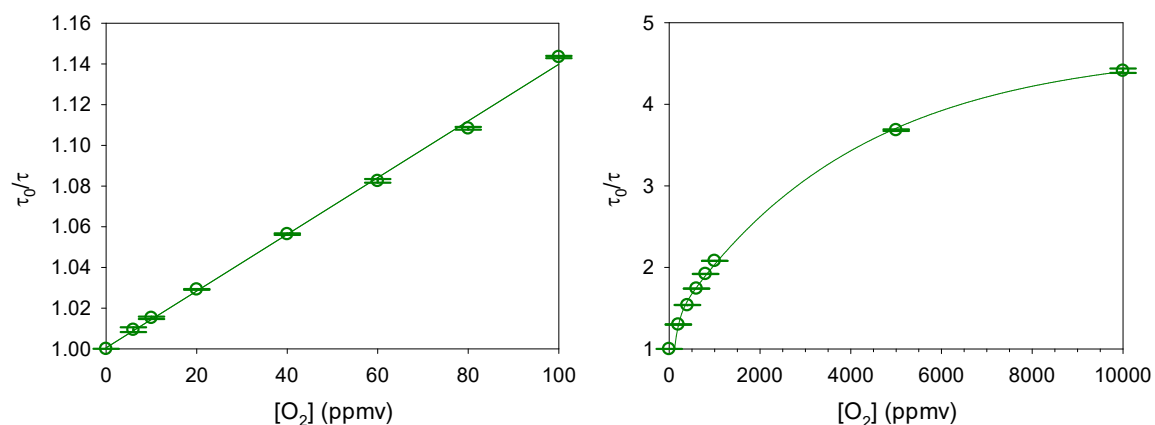
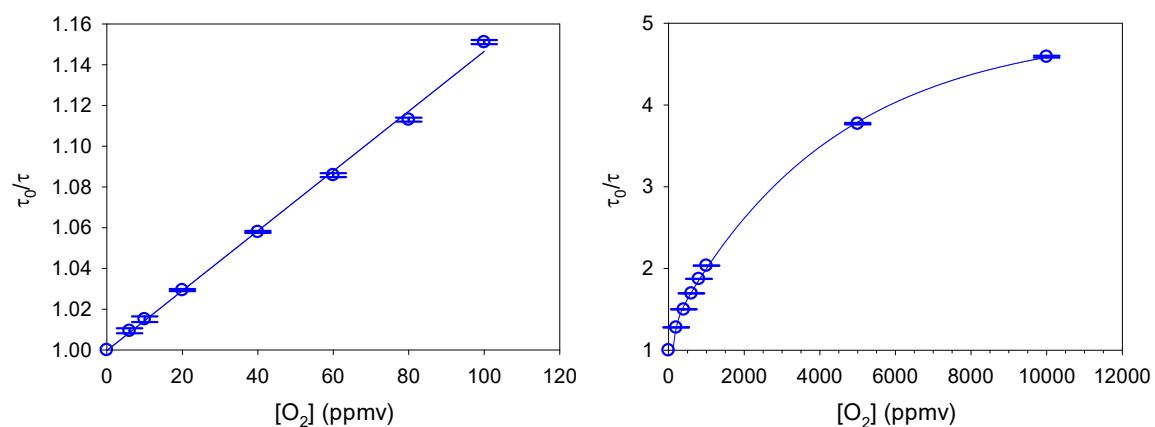
**Figure S4.** Micrographs of the  $\text{O}_2$ -sensitive materials produced by sintering (A) RB3- or (B) RD3-dyed S-5130 silica powder (see Materials and methods section 2.3). Left, bright field images; right, luminescence images. Olympus BX51 fluorescence microscope with 100-watt W-halogen illuminator, 20x achromatic objective, and Lumenera Infinity3-/UC cooled digital camera (1392x1040 resolution); for recording the luminescence images, an excitation ET470/24m band-pass filter (Chroma), an emission HQ500lp band-pass filter (Chroma), and a 490dcxr (Chroma) dichroic beam splitter were used.



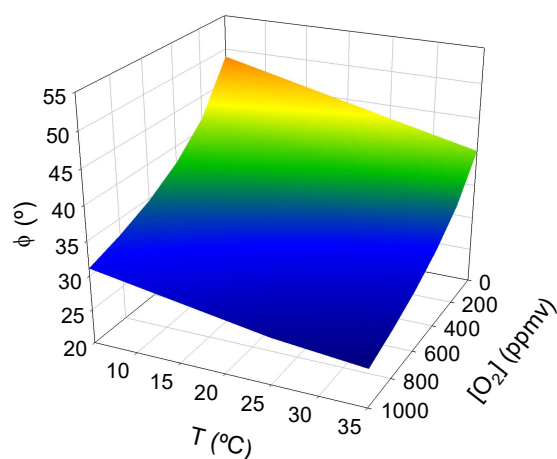
**Figure S5.** Sensitivity of the RD3- (○) and RB3-based (△) O<sub>2</sub> sensing materials as a function of the amount of indicator dye immobilized on the S-5130 silica support.  $\Delta\phi_{0-122.6}$  is the phase shift excursion from 0 to 122.6 ppmv O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>. Confidence intervals  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level);  $n = 3$ ; at  $(15.0 \pm 0.2)$  °C.



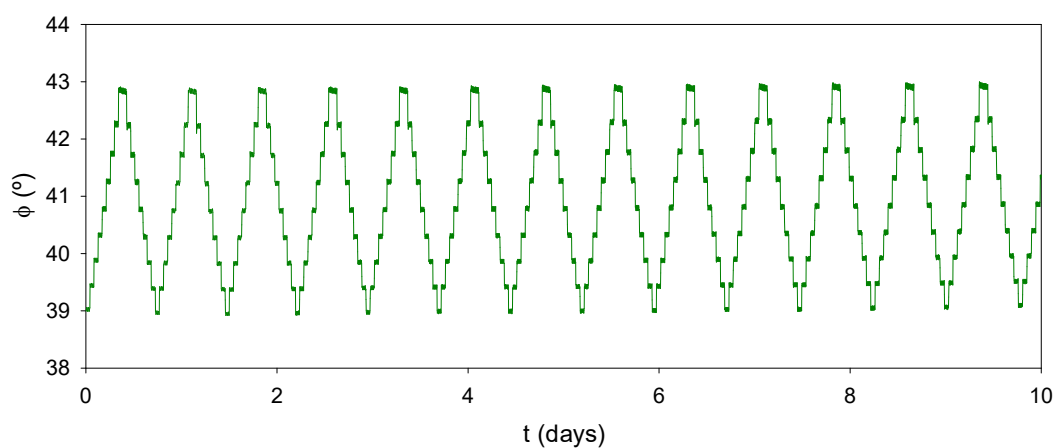
**Figure S6.** RD3/S-5130 luminescent O<sub>2</sub> sensor response and corresponding calibration plots at different O<sub>2</sub> concentrations (50 mL min<sup>-1</sup> gas flow,  $(15.0 \pm 0.2)$  °C, 39 kHz modulation frequency). Confidence intervals  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level).

**A****B**

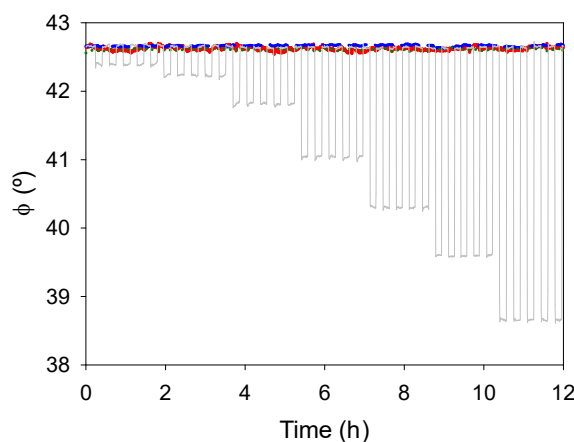
**Figure S7.** Stern-Volmer plots for the luminescent oxygen sensors RD3/S-5130 (A) and RB3/S-5130 (B) in the following  $O_2$  concentrations range: 0–100 ppmv (left) and 0–10000 ppmv (right). Confidence intervals  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level).



**Figure S8.** Calibration plot of the RD3/S-5130 luminescent O<sub>2</sub> sensor in the 0–1000 ppmv O<sub>2</sub> range at different temperatures (50 mL min<sup>−1</sup> gas flow rate; 39 kHz modulation frequency).



**Figure S9.** Long-term readings of the RD3/S-5130 luminescent sensor in the 0–122.6 ppmv O<sub>2</sub> concentration range (50 mL min<sup>−1</sup> gas flow rate, at 15 °C and 39 kHz modulation frequency).



**Figure S10.** O<sub>2</sub> luminescent sensor response to NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S and RSH. Concentrations tested: 0–50.5 ppmv of ammonia (red solid line), 0–10.1 ppmv of hydrogen sulfide (blue dashed line) and 0–20.0 ppmv of methylmercaptan (green dotted line). O<sub>2</sub> sensing film calibration plot in the 0–100.5 ppmv O<sub>2</sub> range (grey solid line). Modulation frequency 39 kHz, 50 mL min<sup>-1</sup> flow, (15.0 ± 0.2) °C.

### 1.5.3. Chemicals, supports and solvents

Bathophenanthroline (4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline, ≥ 99.0%), anhydrous Al(III) chloride (99.9%) and hydrazine monohydrate (99%) were from Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany). Biphenyl (99%) and palladium on activated charcoal were from Sigma-Aldrich Química (Madrid, Spain). 3-Chloropropionyl chloride (98%), 2-Nitroaniline (98%) and As(V) oxide hydrate (99.9%) were from Acros Organics (Geel, Belgium). Ru(III) chloride hydrate (99%) and ammonium hexafluorophosphate were from Fluorochem (Derbyshire, UK). Anhydrous N,N-dimethylformamide (DMF; 99.8%, over molecular sieves), phosphoric acid (85% wt. solution in water), acetonitrile (HPLC grade), toluene (HPLC grade) and chloroform (HPLC grade) were from Acros Organics. Carbon disulfide (99.9%), aqueous ammonia (25%), acetone (HPLC grade), n-hexane (HPLC grade), ethyl acetate (HPLC grade), methanol (HPLC grade) and ethanol (HPLC grade) were from VWR Eurolab (Barcelona, Spain). Ethylene glycol (extra pure), hydrochloric acid (36.5–38%), potassium hydroxide and silica gel 60 (40–60 μm, for flash chromatography) were from Scharlau (Sentmenat, Spain).

### 1.5.4. Luminescent probes preparation

#### 1.5.4.1. Ru(II) polypyridyl complexes

Tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) (RD3) and tris(4,7-bis([1,1'-biphenyl]-4-yl)-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) dichloride (RB3) were synthesized from Ru(III) chloride hydrate and the corresponding chelating ligand, 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline or 4,7-bis(1,1'-biphenyl-4-yl)-1,10-phenanthroline, respectively, following the established procedure,<sup>47</sup> and carefully purified by repeated re-precipitation. A suspension of



the corresponding ligand (3.3 mmol of 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline or 4,7-bis(1,1'-biphenyl-4-yl)-1,10-phenanthroline) and ruthenium(II) trichloride trihydrate (1 mmol) in DMF was heated to reflux. After the reaction was completed, it was cooled to room temperature and ruthenium(II) complexes were obtained by further precipitation. RD3 was precipitated by adding a saturated ammonium hexafluorophosphate concentrated solution, whereas RB3 was precipitated by keeping the reaction mixture in a closed container where an acetone/water (10:1 v/v) mixture was also placed in a separate beaker. The resulting red solid was filtered, washed with acetone and dried under vacuum.

**RD3.** <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ/ppm 8.29 (d, 6H, *J* = 5.4 Hz), 8.23 (s, 6H), 7.66 (d, 6H, *J* = 5.7 Hz), 7.63 (br, 20H). **MS** (ESI<sup>+</sup>): *m/z* [M]<sup>2+</sup> calculated for C<sub>72</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>Ru<sup>2+</sup> 549.15, found 549.4.

**RB3.** <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ/ppm 8.87 (d, 6H, *J* = 5.4 Hz), 8.30 (s, 6H), 7.99 (d, 6H, *J* = 5.4 Hz), 7.80 (d, 12H, *J* = 8.4 Hz), 7.75 (d, 12H, *J* = 8.4 Hz), 7.71 (d, 12H, *J* = 7.7 Hz), 7.49 (m, 12H), 7.40 (m, 6H). **MS** (ESI<sup>+</sup>): *m/z* [M]<sup>2+</sup> calculated for C<sub>108</sub>H<sub>72</sub>N<sub>6</sub>Ru<sup>2+</sup> 777.24, found 777.5.

#### 1.5.4.2. Heterocyclic chelating ligands

**4,7-Diphenyl-1,10-phenanthroline** was commercially available and used as received (Alfa Aesar).

**4,7-Bis[(1,1'-biphenyl)-4-yl]-1,10-phenanthroline** was obtained by following the procedure described by Case et al.,<sup>48</sup> except for the reduction of 4-(1,1'-biphenyl)-4-yl-8-nitroquinoline to the aminoquinoline, as shown below.

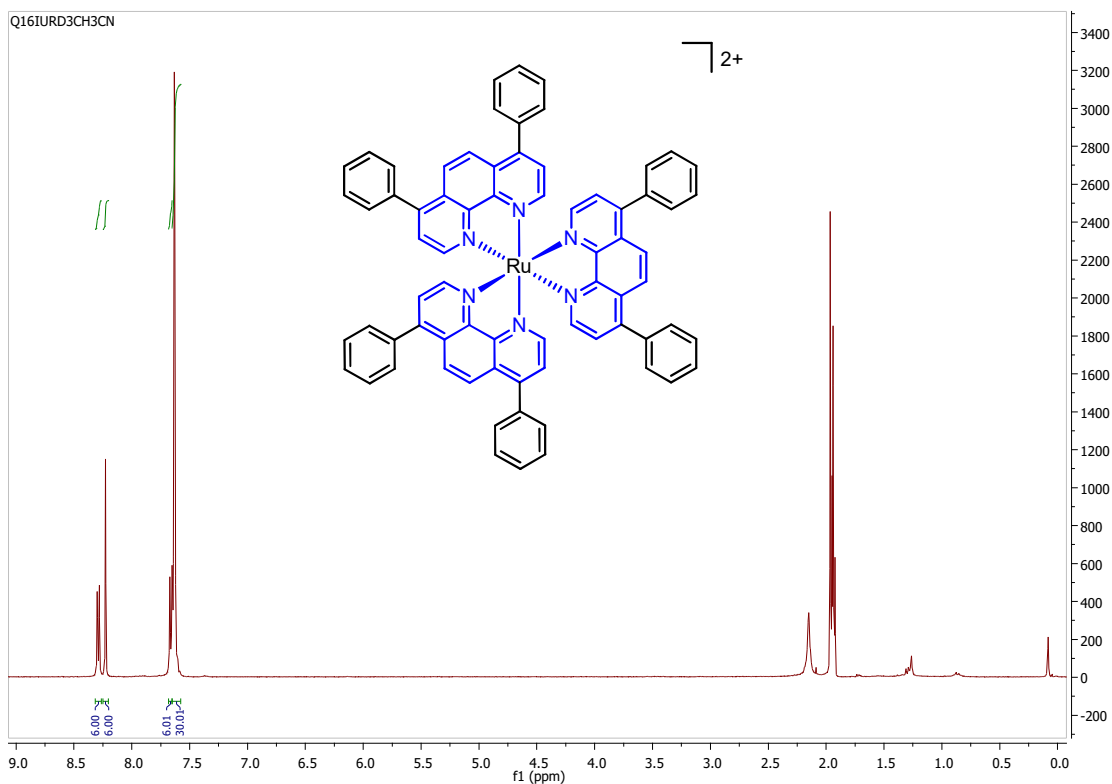
**2-chloroethyl-4-biphenyl ketone.** To a suspension of 6 g of anhydrous aluminium trichloride (45 mmol) in 50 mL of anhydrous carbon disulfide, 8.7 mL of 3-chloropropionyl chloride (90 mmol) was added. Afterwards, 14 g of biphenyl (90 mmol) in 50 mL of carbon disulfide was added dropwise and the mixture was heated to reflux for 5 hours. Upon cooling to room temperature, the solution was poured over a mixture of 100 g ice and 5 mL of concentrated hydrochloric acid, and was extracted with 150 mL of chloroform (3 x 50 mL). The organic phase was washed with water, dried with anhydrous sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. Finally, further purification by recrystallization with *n*-hexane yield 11.20 mg (47%) of pure product. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ/ppm 8.04 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 7.71 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 7.64 (dd, 2H, *J* = 8.3 Hz and 1.46), 7.49 (t, 1H, *J* = 8.3 Hz), 7.45 (m, 1H), 3.94 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz), 3.48 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz).

**4-(1,1'-Biphenyl)-4-yl-8-nitroquinoline.** A mixture of 2-nitroaniline (3.2 g, 23 mmol) and hydrated arsenic acid (10.5 g, 46 mmol) in 25 mL of orthophosphoric acid (85%) was heated to 100 °C under stirring for 20 minutes. After adding 2-chloroethyl-4-biphenyl ketone (8.4 g, 34.5 mmol), the mixture was heated to 140 °C for 30 minutes. Upon cooling to room temperature, 25 g of ice was added and the resulting mixture was basified with potassium hydroxide (40%). The precipitated brown solid was separated by filtration, extracted with hot toluene (3 x 10 mL) and the solvent was evaporated under reduced pressure. Further purification by flash chromatography in silica gel with chloroform, hexane and ethyl acetate (10:9:1 v/v) yielded the desired product (6.04 mg, 80% yield). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ/ppm 9.09 (d, 1H, *J* = 4.5 Hz), 8.22 (dd, 1H, *J* = 8.4 and 1.3 Hz), 8.03 (dd, 1H, *J* = 7.5 and 1.3 Hz), 7.80 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.69 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.58 (dd, 1H, *J* = 8.4 and 7.5 Hz), 7.56 (d, 1H, *J* = 4.5 Hz), 7.57 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.51 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.42 (m, 1H).

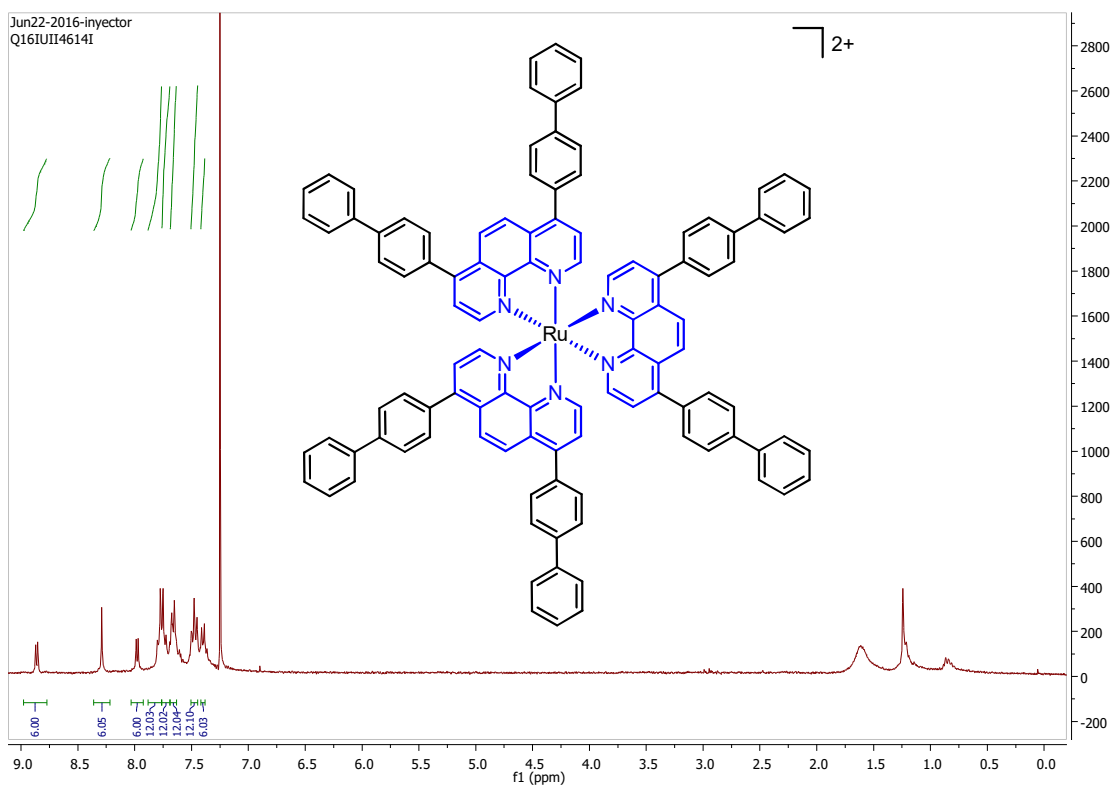
**4-(1,1'-Biphenyl)-4-yl-8-aminoquinoline** was obtained from the reduction of the 4-(1,1'-biphenyl-4-yl)-8-nitroquinoline intermediate (150 mg, 0.46 mmol) with Pd(0) on activated charcoal (13.5 mg) and hydrazine monohydrate (0.11 mL, 2.16 mmol) in ethanol (6 mL). Heating the solution to 75 °C, the reaction was completed in 30 min. The mixture was filtered to remove the solid catalyst and concentrated by boiling. Upon cooling to room temperature, the desired product precipitated as yellow crystals, which were filtered and washed with diethyl ether to yield the pure aminoquinoline (112 mg, 82% yield). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ/ppm 8.81 (d, 1H, *J* = 4.5 Hz), 7.74 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.69 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.59 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.50 (m, 2H), 7.40 (m, 1H), 7.35 (d, 1H, *J* = 4.5 Hz), 7.31 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz), 7.30 (d, 1H, *J* = 3.3 Hz), 6.96 (dd, 1H, *J* = 3.3 and 5.4), 5.07 (br, 2H, NH<sub>2</sub>).

**4,7-Bis[(1,1'-biphenyl)-4-yl]-1,10-phenanthroline.** To a heat mixture (100 °C) of 4-(1,1'-Biphenyl)-4-yl-8-aminoquinoline (1.5 g, 5.1 mmol) in 10 mL orthophosphoric acid (85%), 2-chloroethyl-4-biphenyl ketone (1.73 g, 7.1 mmol) was added and was heated to 140 °C under stirring for 1 h. Upon cooling to room temperature, ice was added and the resulting mixture was basified with potassium hydroxide (40%). The precipitated brown solid was separated by filtration, washed with water and extracted with chloroform (3 x 10 mL). The resulting yellow solid was further purified by flash chromatography in silica gel with a mixture of methanol and ammonia (40:1 v/v), yielding the desired product (1.05 g, 43% yield). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ/ppm 9.25 (d, 2H, *J* = 4.5 Hz), 7.97 (s, 2H), 7.78 (d, 4H, *J* = 8.3 Hz), 7.69 (d, 4H, *J* = 7.1 Hz), 7.64 (d, 2H, *J* = 4.5 Hz), 7.63 (d, 4H, *J* = 8.4 Hz), 7.40 (m, 4H), 7.40 (m, 2H).

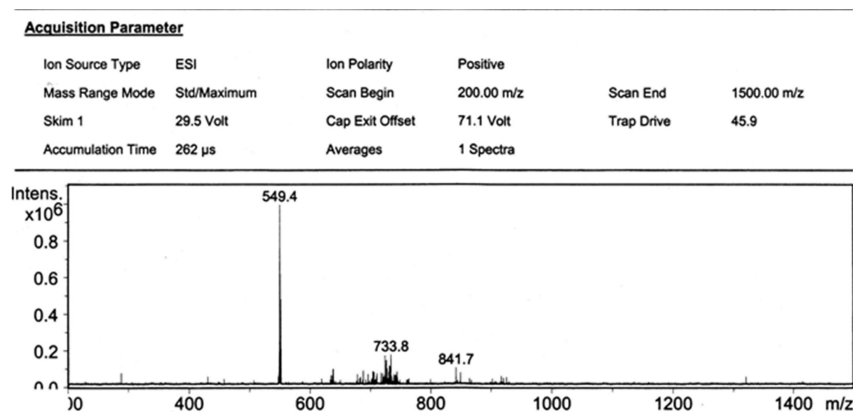
<sup>1</sup>H-NMR spectra were recorded on a Bruker DPX 300MHz BACS-60 spectrometer (UCM Central Instrumentation Facilities). Mass spectra were acquired on a Bruker Esquire LC-Ion Trap spectrometer (UCM Central Instrumentation Facilities).



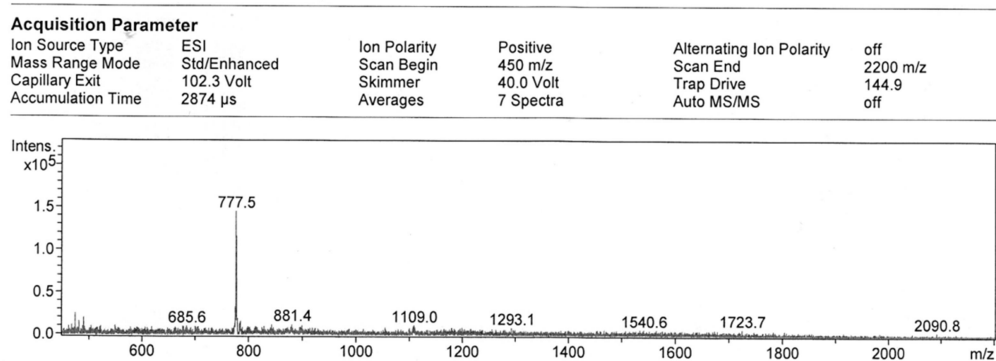
**Figure S11.** <sup>1</sup>H NMR spectrum of RD3 (in CD<sub>3</sub>CN).



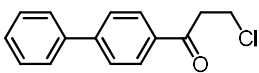
**Figure S12.** <sup>1</sup>H NMR spectrum of RB3 (in CDCl<sub>3</sub>).



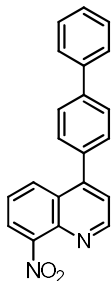
**Figure S13.** Mass spectrum of RD3 recorded in CH<sub>3</sub>OH by electrospray ionization in positive detection mode; m/z: [M]<sup>2+</sup> calcd. for [C<sub>72</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>Ru]<sup>2+</sup>, 549.15; found, 549.4.



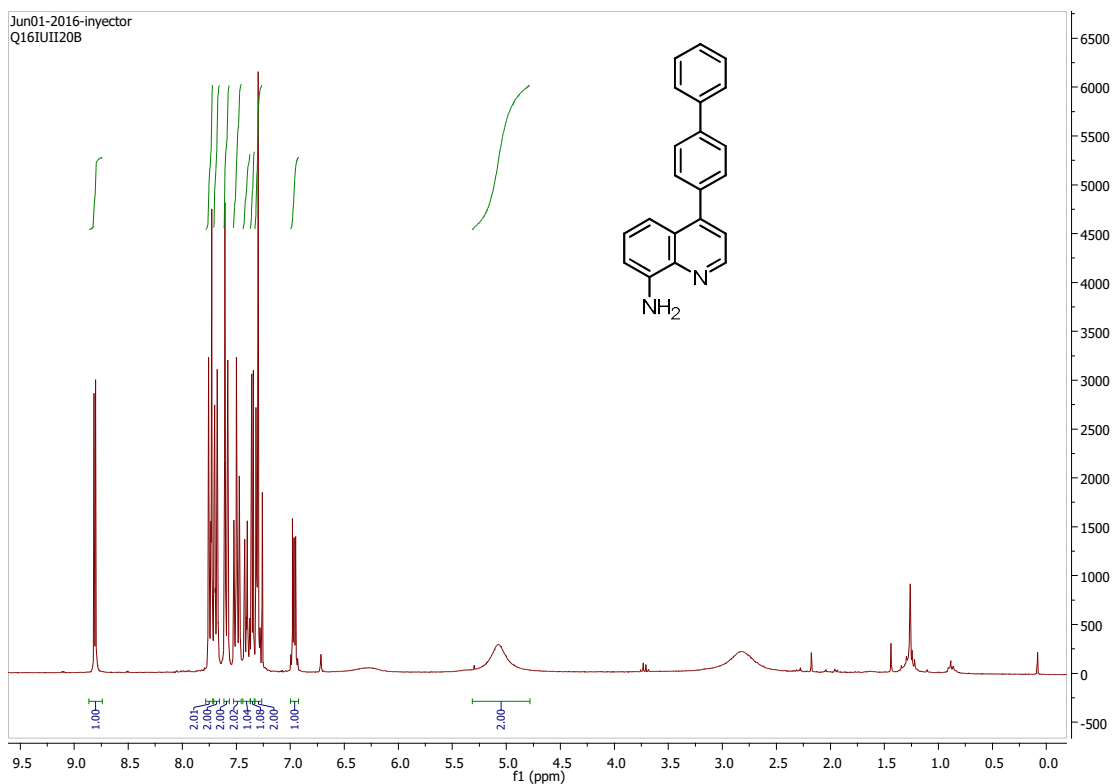
**Figure S14.** Mass spectrum of RB3 recorded in CH<sub>3</sub>OH by electrospray ionization in positive detection mode; m/z: [M]<sup>2+</sup> calcd. for [C<sub>108</sub>H<sub>72</sub>N<sub>6</sub>Ru]<sup>2+</sup>, 777.24; found, 777.5.



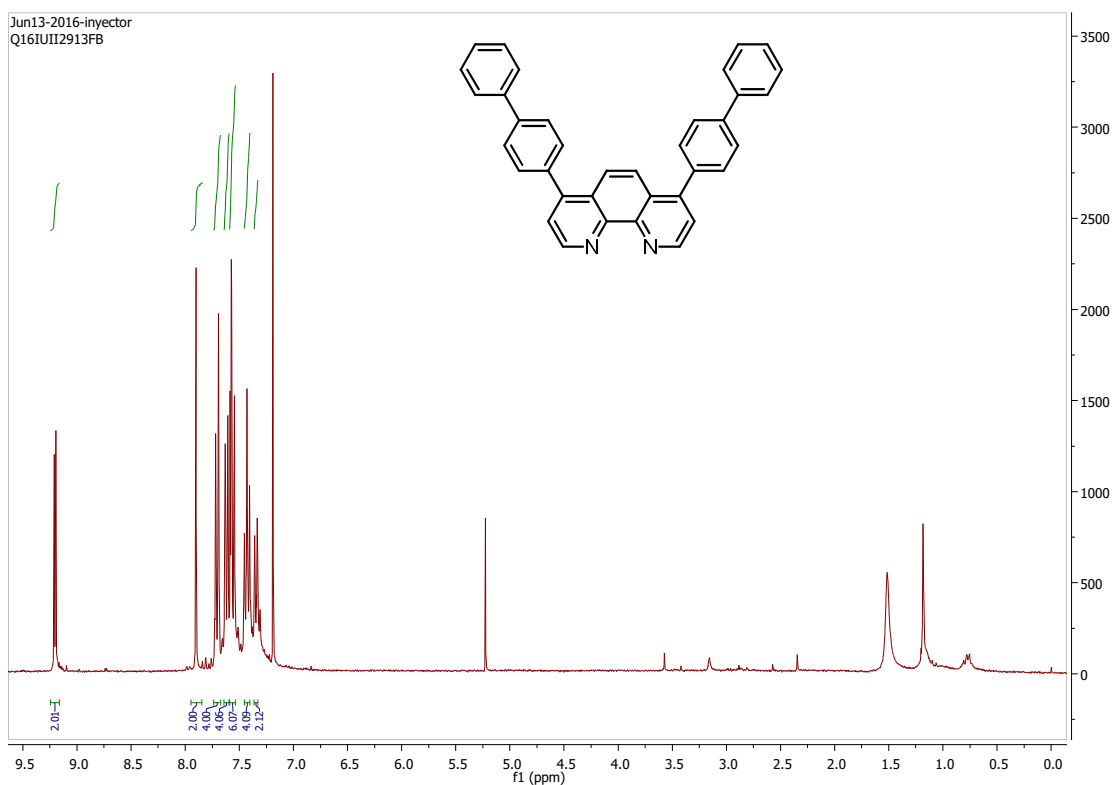
**Figure S15.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 2-chloroethyl-4-biphenyl ketone (in  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figure S16.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 4-(1,1'-Biphenyl)-4-yl-8-nitroquinoline (in  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figure S17.** <sup>1</sup>H NMR spectrum of 4-(1,1'-Biphenyl)-4-yl-8-aminoquinoline (in CDCl<sub>3</sub>).



**Figure S18.** <sup>1</sup>H NMR spectrum of 4,7-Bis[(1,1'-biphenyl)-4-yl]-1,10-phenanthroline (in CDCl<sub>3</sub>).

## Acknowledgements

This work has been funded by Gas Natural Fenosa Engineering (GNFE, Madrid, Spain) within the Smart Green Gas project granted in part by the CDTI “CIEN” program (ref. IDI-20141349), co-financed by the European Regional Development fund. The collaboration of Inés Conde, Piedad Martinez, Carmen Guinea and John Chamberlain from GNFE, and of Raul Cano and Pilar Icaran of FCC Aqualia (Madrid, Spain) for the field testing of the sensors is greatly acknowledged. The FLS980 SPT equipment was purchased with funds of MINECO grant CTQ2015-69278-C2-2-R.

## References

- [1] Bowe, S. Market development and certification schemes for biomethane. In *The biogas handbook: science, production and applications*; Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D., Ed.; Woodhead Publishing: United Kingdom, 2013; pp 444–462.
- [2] Li, H.; Mehmood, D.; Thorin, E.; Yu, Z. Biomethane production via anaerobic digestion and biomass gasification. *Energy Procedia* **2017**, *105*, 1172–1177.
- [3] Muñoz, R.; Meier, L.; Diaz, D. A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **2014**, *14*, 727–759.
- [4] Beil, M.; Beyrich, W. Biogas upgrading to biomethane. In *The biogas handbook: science, production and applications*; Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D., Ed.; Woodhead Publishing: United Kingdom, 2013; pp 342–377.
- [5] Persson, O.; Jönsson, O.; Wellinger, A. *Biogas upgrading to vehicle fuel standards and grid injection*; IEA Bioenergy: Paris, 2006.
- [6] *Natural gas and biomethane for use in transport and biomethane for injection in the natural gas network - Part 1: specifications for biomethane for injection in the natural gas network*; EN 16723-1; European Organization for Standardization, 2016.
- [7] Petersson, A. Biogas cleaning. In *The Biogas Handbook: science, Production and Applications*; Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D., Ed.; Woodhead Publishing: United Kingdom, 2013; pp 321–341.
- [8] *Gas infrastructure - Quality of gas - Group H*; EN 16726; European Organization for Standardization, 2015.
- [9] *Natural gas - Determination of composition with defined uncertainty by gas chromatography – Part 6: determination of hydrogen, helium, oxygen, nitrogen, carbon dioxide and C1 to C8 hydrocarbons using three capillary columns*; EN 6974-6; International Organization for Standardization, 2002.

- [10] Ramamoorthy, R.; Dutta, P.K.; Akbar, S.A. Oxygen sensors: materials, methods, designs and applications. *J. Mater. Sci.* **2003**, *38*, 4271–4282.
- [11] Shuk, P. Oxygen gas sensing technologies application: a comprehensive review. In *Sensors for everyday life. Smart sensors, measurement and instrumentation*; Mukhopadhyay, S., Postolache, O., Jayasundera, K., Swain, A., Ed.; Springer: Cham, 2017; pp 81–107.
- [12] McDonagh, C.; Burke, C.S.; MacCraith, B.D. Optical chemical sensors. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 400–422.
- [13] Wang, X.; Wolfbeis, O.S. Optical methods for sensing and imaging of oxygen: materials, spectroscopies and applications. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 3666–3761.
- [14] Orellana, G. Fluorescence-based sensors. In *Optical chemical sensors*; Baldini, F., Chester, A.N., Homola, J., Martellucci, S., Ed.; NATO Sci. Ser. II, Vol. 224, Springer-Kluwer: Amsterdam, 2006; pp 99–116.
- [15] Valeur, B.; Berberan-Santos, M.N. *Molecular fluorescence, Principles and applications*, 2nd ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012.
- [16] Orellana, G.; Moreno-Bondi, M.C.; Garcia-Fresnadillo, D.; Marazuela, M.D. The interplay of indicator, support and analyte in optical sensor layers. In *Frontiers in chemical sensors*; Orellana, G., Moreno-Bondi, M.C., Ed.; Springer Ser. Chem. Sens. Biosens.: Berlin, 2005; pp 189–225.
- [17] Quaranta, M.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Indicators for optical oxygen sensors. *Bioanal. Rev.* **2012**, *4*, 115–157.
- [18] Orellana, G.; Garcia-Fresnadillo, D. Environmental and industrial optosensing with tailored luminescent Ru(II) Polypyridyl Complexes. In *Optical sensors*; Narayanaswamy, R., Wolfbeis, O.S., Ed.; Springer Ser Chem Sens Biosens: Berlin, 2004; pp 309–357.
- [19] See, for instance, Ocean Optics NeoFox (FOXY), Hach Ultra Orbisphere or WTW FDO<sup>®</sup> 925 dissolved oxygen monitors.
- [20] Orellana, G. Luminescent optical sensors. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 344–346.
- [21] Brglez, P.; Holobar, A.; Pivec, A.; Belsak, N.; Kolar, M. Determination of oxygen by means of a biogas and gas - Interference study using an optical tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline) ruthenium(II) dichloride complex sensor. *Acta. Chim. Slov.* **2012**, *59*, 50–58.
- [22] Lehner, P.; Staudinger, C.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Ultra-sensitive optical oxygen sensors for characterization of nearly anoxic systems. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4460–4464.
- [23] Farooq, A.; Al-Jowder, R.; Narayanaswamy, R.; Azzawi, M.; Roche, P.J.R.; Whitehead, D.E. Gas detection using quenching fluorescence of dye-immobilized silica nanoparticles. *Sens. Actuators B: Chem.* **2013**, *183*, 230–238.



- [24] Baleizão, C.; Nagl, S.; Schäferling, M.; Berberan-Santos, M.N.; Wolfbeis, O.S. Dual fluorescence sensor for trace oxygen and temperature with unmatched range and sensitivity. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 6449–6457.
- [25] Bukowski, R.M.; Ciriminna, R.; Pagliaro, M.; Bright, F.V. High-performance quenchometric oxygen sensors based on fluorinated xerogels doped with [Ru(dpp)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 2670–2672.
- [26] McDonagh, C.; MacCraith, B.D.; McEvoy, A.K. Tailoring of sol-gel films for optical sensing of oxygen in gas and aqueous phase. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 45–50.
- [27] Carraway, E.R.; Demas, J.N.; DeGraff, B.A.; Bacon, J.R. Photophysics and photochemistry of oxygen sensors based on luminescent transition-metal complexes. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 337–342.
- [28] The luminescence phase shift ( $\phi$ ) and the lifetime ( $\tau$ ) are related by the trigonometric function  $\tan \phi = 2\pi f\tau$ , where  $f$  is the modulation frequency of the excitation LED source [15].
- [29] Suzuki, K.; Kobayashi, A.; Kaneko, S.; Takehira, K.; Yoshihara, T.; Ishida, H.; Shiina, Y.; Oishi, S.; Tobita, S. Reevaluation of absolute luminescence quantum yields of standards solutions using a spectrometer with an integrating sphere and back-thinned CCD detector. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 9850–9860.
- [30] Simon, J. A.; Curry, S. L.; Schmehl, R. H.; Schatz, T. R.; Piotrowiak, P.; Jin, X.; Thummel, R.P. Intramolecular electronic energy transfer in ruthenium(II) diimine donor/pyrene acceptor complexes linked by a single C–C bond. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11012–11022.
- [31] Tyson, D.S.; Henbest, K.B.; Bialecki, J.; Castellano, F.N. Excited state processes in ruthenium(II)/pyrenyl complexes displaying extended lifetimes. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8154–8161.
- [32] Zhao, J.; Ji, S.; Wu, W.; Wu, W.; Guo, H.; Sun, J.; Sun, H.; Liu, Y.; Li, Q.; Huang, L. Transition metal complexes with strong absorption of visible light and long-lived triplet excited states: from molecular design to applications. *RSC Advances* **2012**, *2*, 1712–1728.
- [33] Komatsu, H.; Yoshihara, K.; Yamada, H.; Kimura, Y.; Son, A.; Nishimoto, S.; Tanabe, K. Ruthenium complexes with hydrophobic ligands that are key factors for the optical imaging of physiological hypoxia. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 1971–1977.
- [34] Ji, S.; Wu, W.; Wu, W.; Song, P.; Han, K.; Wang, Z.; Liu, S.; Guo, H.; Zhao, Z. Tuning the luminescence lifetimes of ruthenium(II) polypyridine complexes and its application in luminescent oxygen sensing. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 1953–1963.
- [35] Garcia-Fresnadillo, D.; Georgiadou, Y.; Orellana, G.; Braun, A.M.; Oliveros, E. Singlet-oxygen (<sup>1</sup>Δ<sub>g</sub>) production by ruthenium(II) complexes. *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1222–1238.

- [36] Alford, P.C.; MCoock, M.J.; Lewis, A.P.; McAuliffe, G.S.G.; Skarda, V.; Thomson, A.J.; Glasper, J.L.; Robbins, D.J. Luminescent metal complexes. Part 5. Luminescence properties of ring-substituted 1,10-phenanthroline tris-complexes of ruthenium(II). *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1985**, 25, 705–709.
- [37] Yeh, A.T.; Shank, C.V.; McCusker, J.K. Ultrafast electron localization dynamics following photo-induced charge transfer. *Science* **2000**, 289, 935–938.
- [38] André, P.L. The surface properties of silica. Wiley: Chichester, 1999.
- [39] López-Gejo, J.; Haigh, D.; Orellana, G. Relationship between the microscopic and macroscopic world in optical oxygen sensing: a luminescence lifetime microscopy study. *Langmuir* **2010**, 26, 2144–2150.
- [40] Castro, A.M.; Delgado, J.; Orellana, G. Hydrocarbon in water sensing with PTFE membranes doped with a luminescent Ru(II) poly(pyridyl) complex. *J. Mater. Chem.* **2005**, 15, 2952–2958.
- [41] Bustamante, N.; Ielasi, G.; Bedoya, M.; Orellana, G. Optimization of temperature sensing with polymer-embedded luminescent Ru(II) complexes. *Polymers* **2018**, 10, 234.
- [42] Kochmann, S.; Baleizão, C.; Berberan-Santos, M.N.; Wolfbeis, O.S. Sensing and imaging of oxygen with parts per billion limits of detection and based on the quenching of the delayed fluorescence of  $^{13}\text{C}_{70}$  fullerene in polymer hosts. *Anal. Chem.* **2013**, 85, 1300–1304.
- [43] Lehner, P.; Staudinger, C.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Ultra-sensitive optical oxygen sensors for characterization of nearly anoxic systems. *Nat. Commun.* **2014**, 5, 4460.
- [44] Borisov, S.M.; Lehner, P.; Klimant, I. Novel optical trace oxygen sensors based on platinum(II) and palladium(II) complexes with 5,10,15,20-meso-tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)-porphyrin covalently immobilized on silica-gel particles. *Anal. Chim. Acta* **2011**, 690, 108–115.
- [45] Banerjee, S.; Kuznetsova, R.T.; Papkovsky, D.B. Solid-state oxygen sensors based on phosphorescent diiodo-borondipyrromethene dye. *Sens. Actuators B: Chem.* **2015**, 212, 229–234.
- [46] Liu, C.; Yu, H.; Rao, X.; Lv, X.; Jin, Z.; Qiu, J. Bis-cyclometalated Ir(III) complexes with a diphenylamino group: design, synthesis, and application in oxygen sensing. *Dyes Pigments* **2017**, 136, 641–647.
- [47] Orellana, G.; Alvarez-Ibarra, C.; Quiroga, M.C. New binuclear heterocyclic ligands sharing an  $\alpha$ -diimine moiety and their ruthenium(II) tris-chelates. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1988**, 97, 731–742.
- [48] Case, F.H.; Strohm, P.F. Substituted 1,10-phenanthrolines. XIII. The synthesis of new 4-mono- and 4,7-dialkyl- and -aryl-1,10-phenanthrolines. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 1641–1643



## 2. Unprecedented reversible real-time luminescent sensing of H<sub>2</sub>S in the gas phase.

**analytical  
chemistry**

Cite This: *Anal. Chem.* 2019, 91, 2231–2238

Article

pubs.acs.org/ac

### Unprecedented Reversible Real-Time Luminescent Sensing of H<sub>2</sub>S in the Gas Phase

Idoia Urriza-Arsuaga, Maximino Bedoya,\* and Guillermo Orellana\*

Optical Chemosensors & Applied Photochemistry Group (GSOLFA), Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain

Adapted with permission from:

Analytical Chemistry 2019, 91, 2231–2238

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04811>

Copyright © 2019 American Chemical Society

#### Abstract

Hydrogen sulfide monitoring has become essential in the natural gas industry, biogas production, waste water treatment plants, paper mills, sewers and landfills of waste due to its toxic, irritating, extremely flammable, and corrosive features. However, each of the current monitoring technologies (gas chromatography, lead acetate tape, electrochemical, UV and NIR absorption) has its own limitations. Furthermore, the existing luminescent molecular probes for H<sub>2</sub>S cannot monitor it continuously due to the irreversibility of their reaction with the analyte. Herein, we report the development and application of the first reversible H<sub>2</sub>S luminescent sensor. The sensing layer capitalizes on the highly photooxidizing phosphorescent [bis(1,10-phenanthroline)(1,4,5,8-tetraazaphenanthrene)] ruthenium(II) dication immobilized on alkali-treated silica microspheres, interrogated with a dedicated fiberoptic phase-sensitive luminometer. The chemosensing mechanism is a fully reversible electron transfer from the analyte to the photoexcited dye. The H<sub>2</sub>S optosensor exhibits a 0.34–50 ppmv dynamic range, a limit of detection equal to 0.025 ppmv, repeatability and reproducibility better than 3.2%, plus response and recovery times ( $t_{90}$  and  $t_{-90}$ ) shorter than 240 s. The H<sub>2</sub>S luminescent sensor performance has been verified for more than 6 months in a biomethane production plant, showing an excellent stability with automatic daily maintenance.

## 2.1. Introduction

Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) is a colourless reducing gas with a distinct smell of rotten eggs that is commonly formed as a result of the organic matter decomposition in anaerobic atmospheres.<sup>1</sup> It is toxic and risky to humans, as it causes olfactory fatigue above 100 ppmv, eye and respiratory tract irritation, respiratory failure, and is lethal over 1000 ppmv.<sup>2</sup> It is also an extremely flammable gas, and has corrosive effects on engines, pipelines and fittings. Because of the aforementioned features, in situ real-time H<sub>2</sub>S monitoring has become essential in those areas where this gas is typically encountered (natural gas extraction and refining, biogas production, wastewater treatment plants, paper mills, sewers or landfills of waste), and is getting even more critical as new regulations for this poisonous gas are being released by regulatory bodies.

For instance, as a result of the anaerobic fermentation of organic feedstock, H<sub>2</sub>S is formed during the biogas generation process, leading to biomethane, a sustainable energy source that is becoming an interesting alternative to nonrenewable fuels. The subsequent upgrading process, in which biogas is cleaned of most impurities including H<sub>2</sub>S, generates the biomethane mentioned above. The required composition of this gas depends on its final use; the European Organization for Standardization has recently released the European Norm EN 16723-1,<sup>3</sup> that details the biomethane specifications for injection in natural gas pipelines, being 5 mg m<sup>-3</sup> the maximum H<sub>2</sub>S limit. Thus, quantification of H<sub>2</sub>S in biomethane has now become mandatory to preserve the energetic quality and the consumers' safety, protect the infrastructures involved, and meet the legal limits.<sup>4</sup>

Several analytical methods for H<sub>2</sub>S measurements in the gas phase can be found in the literature,<sup>5</sup> and a variety of commercial sensing technologies are currently available. The most widespread include gas chromatography coupled to sulfur chemiluminescence or flame photometric detectors,<sup>6-7</sup> the "lead acetate tape" optical dosimeter,<sup>8</sup> solid-state electrochemical devices,<sup>9-10</sup> tunable laser diodes with mid-IR (700–2000 nm) detection,<sup>11</sup> and the direct UV (200 – 400 nm) absorption of the analyte. Although these techniques have already demonstrated their suitability for H<sub>2</sub>S quantification, some of them are costly, require qualified personnel due to the operational complexity, necessitate sample preconditioning, demand time-consuming maintenance, or show poor sensitivity and selectivity, displaying interferences from other gases such as CO, SO<sub>2</sub>, NO, NO<sub>2</sub>, BTX, and/or NH<sub>3</sub>.

Luminescent sensors are particularly attractive because they display high sensitivity and selectivity, allow long-distance monitoring, can operate in explosive or flammable areas, are easy to operate, require low maintenance, and, nowadays, are affordable enough.<sup>12-13</sup> So far,

many luminescent *dosimeters* (i.e., nonreversible probes)<sup>14</sup> have been designed and successfully used for H<sub>2</sub>S recognition and quantification. Among them, fluorescein mercury acetate (FMA) and its derivatives have been used in solution<sup>15</sup> and immobilized on different solid supports (ethyl cellulose,<sup>16</sup> filter paper<sup>17</sup>). Although improvements have led to shorter response times (from 60 to 1 min), reduced FMA consumption, lower waste generation (from mL to  $\mu$ L), enhanced sensitivity (down to a few ppbv), and stability upon irradiation,<sup>17</sup> these H<sub>2</sub>S sensors are irreversible due to the direct reaction between the gas and reagent. Thionine has also been investigated for H<sub>2</sub>S detection. Although the sensing mechanism was described as a “reversible photoreduction”,<sup>18</sup> further research revealed a nonreversible response with incomplete recovery of the signal, probably due to dye bleaching or leaching and slow response times (> 30 min).<sup>19</sup> Furthermore, many other irreversible, i.e., “reaction-based”, fluorescent probes have been developed for selective detection of H<sub>2</sub>S,<sup>20-21</sup> being the most commonly strategies those based on reduction, nucleophilic substitution, or metal sulfide precipitation mechanisms. Although such probes have been mostly applied to biological samples, some additional examples of gaseous H<sub>2</sub>S detection can be found in the literature encompassing metallo-fluorescent probes,<sup>22-24</sup> dinuclear transition metal complexes,<sup>25</sup> or fluorescence transition metal-based metal-organic frameworks (MOFs).<sup>26-27</sup> Unfortunately, the known luminescence-based probes cannot monitor continuously the levels of such gas due to the irreversibility of the reaction by which the H<sub>2</sub>S recognition occurs. Supporting Information, Table S1 provides an account of the best H<sub>2</sub>S sensors reported so far. However, it should be noted that not all the sensors may be used for the sought application.

In this paper, we report the development of a reversible H<sub>2</sub>S gas sensor based on the phosphorescent [bis(1,10-phenanthroline)(1,4,5,8-tetraazaphenanthrene)]ruthenium(II) dihexafluorophosphate dye or RP2T, capable of measuring in situ, continuously, and in real-time. The novel luminescent optode is interrogated by modulated LED excitation, and the luminescence phase shift is detected with a ruggedized portable instrument specifically designed for environmental and industrial monitoring. Finally, its application to real biomethane production plant measurements is also described.

## 2.2. Materials and methods

### 2.2.1. Chemicals

1,10-Phenanthroline (99.0+%) and lithium chloride (99%) were from Acros (Geel, Belgium). 1,4,5,8-Tetraazaphenanthrene was from Janssen (Beerse, Belgium); RuCl<sub>3</sub> hydrate (99%) and ammonium hexafluorophosphate were from Fluorochem (Derbyshire, UK).

Tetrakis(dimethylsulfoxide)dichlororuthenium(II) (96%), 2,2'-bipyrazine (97%), SP Sephadex C-25, lithium hydroxide (98%), sodium sulfide nonahydrate (99.99+%), and potassium *tert*-butoxide ( $\geq 98\%$ ) were from Sigma-Aldrich Química (Madrid, Spain). DiSodium hydrogen phosphate anhydrous (98.0–100.5%), sodium phosphate (pure), calcium hydroxide, barium hydroxide, and sodium carbonate were from Panreac (Barcelona, Spain). *N,N*-Dimethylformamide (99.8%, over molecular sieves), acetonitrile (HPLC), ethylamine (70% in water), cesium hydroxide monohydrate (99.95%), and 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO, 97%) were from Acros. Acetone, methanol and ethanol (all HPLC) were from VWR International Eurolab (Barcelona, Spain). Sodium hydroxide, potassium hydroxide, sodium phosphate, and triethylamine (synthesis grade) were from Scharlau Chemie (Sentmenat, Spain). Purified water was produced by a Direct-Q 3 UV purification system from Merck Millipore (Bedford, MA).

Benzenesulfonic acid-functionalized glass beads (Isolute SCX, 50  $\mu\text{m}$  particle size) were from Biotage (Uppsala, Sweden) (SCX), hydrophilic fumed silica S-5130 (0.007  $\mu\text{m}$  particle size) was from Sigma-Aldrich (S-5130), hydrophobic fumed silica Aerosil R812 (40  $\mu\text{m}$  particle size) was from Evonik (Hanau, Germany) (R812), spherical amino-functionalized silica beads (40–75  $\mu\text{m}$  diameter) (NH<sub>2</sub>-silica) from Supelco, silica microspheres SiliaSphere<sup>TM</sup> PC (40–75  $\mu\text{m}$  diameter) were from SiliCycle (Quebec, Canada) (SiO<sub>2</sub> microspheres), neutral (N) and basic (B) aluminium oxide (alumina) were from Scharlau Chemie, and titanium(IV) oxide (anatase form, 99%) was from Alfa Aesar (Haverhill, MA) (TiO<sub>2</sub>).

N<sub>2</sub> (99.9999%) and CH<sub>4</sub> (99.9995%) gases from cylinders (Contse, San Sebastián de los Reyes, Spain) were passed through an Agilent (Santa Clara, CA) OT3-2-SS oxygen/water trap to decrease their O<sub>2</sub> and moisture content ( $< 15$  ppbv and  $< 25$  ppbv, respectively). Air, also from cylinders (99.995%), was from Praxair (Madrid, Spain). Commercial certified binary mixtures of O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, or CH<sub>3</sub>SH and N<sub>2</sub> (Contse) had the concentrations specified in Supporting Information, Table S2.

### 2.2.2. Instrumentation/Apparatus

UV-vis absorption spectra were recorded with a Varian Cary 3Bio spectrophotometer (Palo Alto, CA). Steady-state luminescence spectra in solution with a FluoroSENS spectrofluorometer (Gilden Photonics, Glasgow, UK), using a red-extended response Hamamatsu R928 photomultiplier. Emission lifetimes of the indicator dyes in solution were determined by single-photon timing (SPT) on a Horiba FluoroMax-4TCSPC spectrofluorometer (Horiba, NJ), equipped with a Horiba NanoLED 470LH laser diode (463 nm,  $< 1$  ns fwhm), an Ortec 416A

delay generator and a Hamamatsu R928P photomultiplier. A 467 nm bandpass interference filter (Chroma) was used to clean the laser diode emission, while the luminescence was monitored through a 550 + 570 nm long-pass colored glass filter combination (CVI Laser Optics). All spectroscopic measurements in solution were carried out in 10 mm x 10 mm fluorescence-grade cells at  $23 \pm 2$  °C. In situ phase-sensitive luminescence monitoring was carried out with a field-deployable fiber-optic instrument developed in our research group (see description in the Supporting Information, Figure S1). The luminescence phase shift ( $\phi$ ) and its lifetime ( $\tau$ ) are related by the function  $\tan\phi = 2\pi f\tau$ , where  $f$  is the modulation frequency of the excitation source.<sup>28</sup> The sensing layers were contained in a homemade two-channel polyvinyl chloride (PVC) flow cell (Supporting Information, Figure S1), enabling up to two analyte-specific fiber-optic terminals. In each channel, a  $110 \pm 30$   $\mu\text{m}$  sensitive layer was placed over a 400 mesh nylon sieve (37  $\mu\text{m}$ , Filtra Vibración, Barcelona, Spain) and covered with a plastic optical window (1 mm x 10 mm, LasIRvis, Cornwall, UK). An acrylonitrile-butadiene O-ring (7.5 mm x 1.5 mm) (Esinsa, Tarragona, Spain) and a PVC adapter screw fixed the sensitive layer to the measuring cell, ensuring the required gas tightness. Finally, 1/8" PTFE tubes were connected to the inlet and outlet of the flow cell, through which calibration and sample gases were circulated. All standards used for calibration of the sensing layers were prepared by using a gas mixing system (PID Eng&Tech, Alcobendas, Spain), consisting of three electronic mass flow controllers (Bronkhorst F-211CV, Ruurlo, The Netherlands) with maximum flows of 20, 50 and 300 mL min<sup>-1</sup>, which were handled by the manufacturer Process@ v.2.2.1.0 software.

### 2.2.3. Sensing layer preparation

To a suspension of 20 mg of solid support in 0.5 mL of 0.016 M NaOH solution in water, the appropriate volume (10  $\mu\text{L}$ ) of the stock solution containing the indicator dye (ca.  $1.0 \times 10^{-3}$  M) was added under stirring. After further 2 min, the dye was completely absorbed onto the solid surface. The colorless supernatant was removed, and the dyed support was washed twice with 0.5 mL of ethanol and dried at 60 °C in oven.

### 2.2.4. Measurements

#### 2.2.4.1. Photophysical characterization

All measurements were performed in phosphate buffer (PB) solution (50 mM, pH 10.0) with different HS<sup>-</sup> concentrations. Stock solutions of HS<sup>-</sup> (ca. 776 mM) and of the indicator dyes (ca.  $4\text{--}8 \times 10^{-6}$  M) in PB were prepared. Lifetime measurements of the indicator solutions were



carried out at different HS<sup>-</sup> concentrations. The RB3, RT3 and RPT2 indicator dyes were tested in the 0–3.1 mM [HS<sup>-</sup>]; RP2T and RP3 measurements were performed in the 0–77.7 mM [HS<sup>-</sup>].

#### *2.2.4.2. Calibration and analytical characterization*

The response of the sensing layers was evaluated in the laboratory in the 0–50 ppmv (equivalent to 71.5 mg m<sup>-3</sup>), using the flow-through measuring cell and the gas mixing system described above, via 1/8'' (o.d.) PTFE tubes. All measurements were performed at constant flow rate of 50 mL min<sup>-1</sup>, at controlled temperature (25.0 ± 0.2 °C) and at barometric pressure in Madrid (typically 946 ± 5 mbar). The sensor material was cleaned up automatically through the activation of a NC solenoid valve (SCG256B003VMS, ASCO, MO), that flushes the sample stream with ca. 1300 ppmv water vapor for 5 min every 12 h.

#### *2.2.4.3. Installation of the H<sub>2</sub>S sensor in the biomethane production plant*

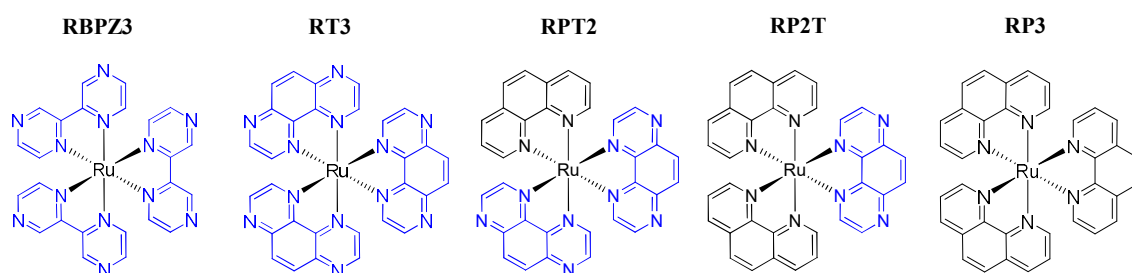
The luminescent sensors were installed in a wastewater treatment plant (WWTP) in Jerez de la Frontera (Spain), where biogas is generated from the anaerobic fermentation of the WWTP sewage sludge. The subsequent upgrading process generates biomethane, which is compressed to 250 bar and stored in gas tanks to use as vehicle fuel. The biomethane sampling line is placed just after the gas compression process and before the gas tanks storage system. A pressure reducer to 2 bar is installed at the inlet of the sampling line. The latter consists of a 1/4'' stainless steel tube, directly connected to the Optical Sensor System (OSA) described above. A flow and pressure control system was additionally employed immediately before the OSA. The sampling line configuration enables continuous H<sub>2</sub>S monitoring in the biomethane stream originating from either the upgrading plant (in operation from 9:00 to 17:00 h during working days) or the gas storage cylinders (when the plant is shut down). The sensing layers employed in situ were prepared in our laboratory, and a two-point calibration (0 and 10 (or 50) ppmv H<sub>2</sub>S) was performed before their deployment. Once installed, all measurements were carried out at barometric pressure in Jerez (typically 1010 ± 7 mbar) with a 100 mL min<sup>-1</sup> flow. The temperature was continuously monitored to automatically correct the sensor response for temperature effects.

## **2.3. Results and discussion**

### *2.3.1. Molecular engineering of the indicator dyes*

With the aim of developing a reversible luminescent H<sub>2</sub>S sensor, a Ru(II) polypyridyl complex was selected first because these indicator dyes are currently in commercial widespread

use for luminescent O<sub>2</sub> monitors.<sup>29</sup> Moreover, we can capitalize on the high versatility of these coordination compounds that has been exploited so far for sensing different analytes (O<sub>2</sub>, pH, CO<sub>2</sub>, humidity, temperature,...).<sup>30-31</sup> In this way, a variety of luminescent Ru(II) polypyridyls, responding to different targets thanks to tailored photochemical quenching of their emission by electron, proton or energy transfer, can be obtained by a judicious design and selection of their heterocyclic chelating ligands. Taking into account that H<sub>2</sub>S is a known reductant, we considered the use of photooxidizing Ru(II) polypyridyls, so that the analyte would quench the emissive excited state of such complexes by photoinduced electron transfer (PET), but its ground state would be unreactive. Ru(II) complexes containing  $\pi$ -deficient ligands such as 2,2'-bipyrazine (BPZ) or 1,4,5,8-tetraazaphenanthrene (T) (Figure 1) have been described in the literature as highly photooxidizing agents due to the strong electron-withdrawing character of these ligands (see below).<sup>32-33</sup> Therefore, in this study we have prepared five Ru(II) complexes as potentially sensitive dyes for the development of the luminescent H<sub>2</sub>S sensor (Figure 1; for their synthesis, see the Supporting Information).



**Figure 1.** Chemical structures of the H<sub>2</sub>S indicator dyes.

### 2.3.2. Spectroscopic and Photochemical Characterization

Electronic absorption and emission data of the selected indicator dyes are presented in Table 1. All measurements have been performed at pH 10 to increase the reducing power of H<sub>2</sub>S ( $pK_{a1}^{H_2S} = 7.00$ ).<sup>1</sup> As members of the Ru(II)-polypyridyl family, all these complexes show a broad absorption band in the blue region assigned to an allowed  $d-\pi^*$  metal-to-ligand charge transfer (MLCT) transition. Upon electronic excitation, an intense red emission is observed due to deactivation of the <sup>3</sup>MLCT state, the latter originated by fast efficient intersystem crossing from the initially populated <sup>1</sup>MLCT excited state.<sup>34</sup> The luminescence spectrum and decay of RP2T in the sensing layer are depicted on Supporting Information, Figure S13.

**Table 1.** Absorption, emission, and photochemical data of the luminescent Ru(II)-based H<sub>2</sub>S indicator dyes in phosphate buffer (0.05 M, pH 10.0), at 25.0 ± 0.1 °C.

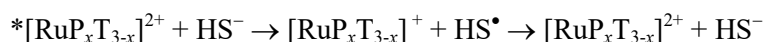
Indicator	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ (nm) <sup>a</sup>	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ (nm) <sup>a</sup>	$\tau_0$ (ns) <sup>b</sup>	$K_{\text{sv}}$ (M <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>	$k_q \times 10^{-9}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>	$E^{(2+*/+)}\text{d}$
RBPZ3	424, 443	620	745 ± 3	6280 (20)	8.43 (0.04)	+ 1.45
RT3	408, 437	606	185 ± 2	1630 (8)	8.81 (0.09)	+ 1.30
RPT2	413, 465	658	655 ± 3	3766 (3)	5.75 (0.01)	+ 1.15
RP2T	436	718	169 ± 1	43 (1)	0.26 (0.01)	+ 0.88
RP3	420, 447	606	444 ± 1	< 0.03	< 0.0007	+ 0.71

<sup>a</sup> Wavelength uncertainty: ± 1 nm. <sup>b</sup> Emission lifetime in air-equilibrated solution in the absence of analyte; confidence intervals ±  $t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level);  $n = 3$ . <sup>c</sup> Stern-Volmer ( $K_{\text{sv}} = k_q \tau_0$ ) and quenching ( $k_q$ ) constants obtained from the linear plots of  $\tau_0/\tau$  vs [HS<sup>-</sup>] (Supporting Information, Figure S12), the predominant species at pH 10 ( $\text{p}K_{\text{a1}}^{\text{H}_2\text{S}} = 7.00$ );<sup>1</sup> in parentheses, the standard deviation of the measurements ( $S_{n-1}$ ). <sup>d</sup> Reduction potentials in the excited state vs. SCE in acetonitrile.<sup>32,35-36</sup>

The short-lived phosphorescence due to the efficient spin-orbit coupling provided by the metal core is very useful for lifetime-based luminescence sensing yet providing a tolerable response to O<sub>2</sub> (particularly, for the most photooxidizing complexes; see Analytical Characterization). Bimolecular dynamic excited state quenching by an external agent (Q) is governed by the known Stern-Volmer relationship (E 1), where  $\tau_0$  and  $\tau$  are the luminescence lifetimes in the absence and in the presence of Q,  $K_{\text{SV}}$  is the Stern-Volmer constant, and [Q] is the quencher (H<sub>2</sub>S) concentration.

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{\text{SV}}[Q] \quad (\text{E } 1)$$

Table 1 shows that  $k_q$  by HS<sup>-</sup> increases as P ligands are sequentially replaced by T (or BPZ) ligands. The stronger electron-withdrawing features of these ligands, compared to phenanthroline, make the corresponding Ru(II) complexes better oxidants.<sup>33,37</sup> These metal complexes are sufficiently oxidizing in their <sup>3</sup>MLCT excited state (Table 1) to accept one electron from HS<sup>-</sup>, the predominant quencher species at pH 10, and be reversibly reduced by the latter (Scheme 1). Back electron transfer has been documented for many photoinduced electron transfer reactions to Ru(II) polypyridyls.<sup>38</sup>

**Scheme 1.** Sensing mechanism of the luminescent H<sub>2</sub>S sensor.

The HS<sup>-</sup> quenching rate constants (Table 1) parallel the redox potential of the photoexcited dyes, in agreement to the Marcus theory for single electron transfers.<sup>39</sup> Photoexcited RP3 is not quenched by HS<sup>-</sup> because its redox potential is lower than that of HS<sup>-</sup> ( $E^{(\text{HS}^{\bullet}/\text{HS}^-)} = +0.91$  V/SCE in water; the value in acetonitrile has not been reported).<sup>40</sup> However, regarding the sensitivity of

these Ru(II) indicators to HS<sup>-</sup> in terms of the Stern-Volmer constants ( $K_{SV} = k_q \tau_0$ ), the most photooxidizing indicator dye does not always provide the highest sensitivity because the latter also depends on the luminescence lifetime in the absence of analyte ( $\tau_0$ ).

### 2.3.3. Sensitive layer optimization

#### 2.3.3.1. Effect of the solid support

An adequate selection of the solid support is extremely important as it determines the sensitivity, selectivity, dynamic range, response time and (photo)stability of the optical sensor.<sup>41</sup> Several good inorganic adsorbents were tested (Table 2) to reduce the dimensionality of the quenching space, leading to a higher probability of an encounter between the indicator dye and H<sub>2</sub>S (or HS<sup>-</sup> in the case of basic supports) and, therefore, to improved sensitivity. Their performance was compared in terms of the luminescence phase shift excursion ( $\Delta\phi = \phi_0 - \phi_{[H_2S]}$ ) for a selected H<sub>2</sub>S concentration range.

**Table 2.** Luminescence lifetime, H<sub>2</sub>S sensitivity, and response time of the sensor media.

Dye	Support <sup>a</sup>	$\tau_{op}$ ( $\mu$ s) <sup>b</sup>	$\Delta\phi$ (°) <sup>c</sup>	$t_{-90}$ (min) ([H <sub>2</sub> S]) <sup>g</sup>
RBPZ3	SCX	1.15	0 <sup>c</sup>	--
RBPZ3	S-5130	1.18	$0.17 \pm 0.02^d$	< 0.5 (50-0)
RBPZ3	R812	1.15	$0.27 \pm 0.02^d$	< 0.5 (50-0)
RBPZ3	NH <sub>2</sub> -silica	0.80	$0.85 \pm 0.05^d$	3 (50-0)
RPT2	NH <sub>2</sub> -silica	1.27	$0.93 \pm 0.03^d$	3 (50-0)
RPT2	SiO <sub>2</sub> microspheres	1.41	0 <sup>d</sup>	--
RPT2	TiO <sub>2</sub> (anatase)	1.19	$5.08 \pm 0.24^c$	129 (0-0.5)
RPT2	Alumina N	1.11	$0.71 \pm 0.13^f$	3.7 (10-7)
RPT2	Alumina B	1.16	$3.56 \pm 0.32^f$	9.1 (10-7)
RPT2	Basified SCX	1.55	$0.80 \pm 0.07^f$	1.9 (15-10)
RPT2	Basified S-5130	0.96	$1.44 \pm 0.07^f$	9.1 (10-7)
RPT2	Basified NH <sub>2</sub> -silica	0.88	$1.90 \pm 0.08^f$	6.6 (15-10)
RPT2	Basified SiO <sub>2</sub> microspheres	1.29	$2.28 \pm 0.22^f$	3.9 (10-7)

<sup>a</sup> For a full description of the supports, see Materials and Methods. <sup>b</sup> Operational emission lifetime of the immobilized dye ( $\tau_{op} = (2\pi f)^{-1} \tan \phi$ ), where  $f$  is the LED intensity modulation frequency (156 KHz) and  $\phi$  is the experimental luminescence phase shift; uncertainty: 1%; 50 mL/min of a 100% N<sub>2</sub> stream at  $23 \pm 2$  °C. <sup>c</sup> Emission phase shift excursion for the specified H<sub>2</sub>S range in N<sub>2</sub> ( $n = 4$ ). <sup>d</sup> 0–50 ppmv. <sup>e</sup> 0–0.5 ppmv. <sup>f</sup> 0–10 ppmv. <sup>g</sup> Recovery time for a 90% change in the specified H<sub>2</sub>S concentration range (ppmv); relative uncertainty 10–30% ( $n = 4$ ).

The highest sensitivity was attained for the TiO<sub>2</sub> support; however, the strong adsorption of H<sub>2</sub>S onto those nanoparticles led to unacceptable response and recovery times. Actually, TiO<sub>2</sub> (anatase) has been used for H<sub>2</sub>S adsorption and photocatalytic removal of this gas.<sup>42</sup> With respect to the other indicator supports, the high sensitivity observed for basic (B) alumina

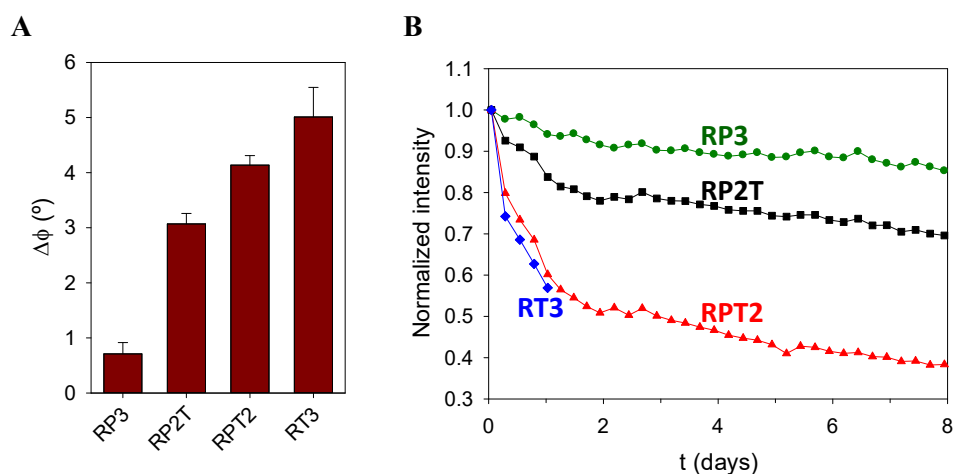
compared to neutral (N) alumina-based sensors, pointed out the convenience of an alkaline support surface for the most efficient adsorption of the cationic Ru(II) complex<sup>43</sup> and analyte accumulation (as an HS<sup>-</sup> + H<sub>2</sub>S mixture).<sup>44</sup> In fact, such prediction was confirmed when siliceous sensing layers (SCX, S-5130, NH<sub>2</sub>-silica, and SiO<sub>2</sub> microspheres) treated with aqueous NaOH, turned out to be significantly more sensitive than the corresponding untreated supports (Table 2). Surface activation of these supports with a strong base leads to the formation of silanoxide groups (-SiO<sup>-</sup>, pK<sub>a</sub> = 4.5). The overall effect leads to a more efficient quenching of the adsorbed photoexcited dye. Therefore, several inorganic and organic bases were tested for the treatment of the SiO<sub>2</sub> microspheres to optimize the Ru(II) polypyridyl immobilization and the sensitivity to H<sub>2</sub>S in the sought 0–10 ppmv range (Supporting Information, Table S3).

Modification of the support surface with aqueous alkaline metal hydroxides, phosphate, or carbonate provided rapid immobilization of the indicator dye and a significant enhancement of the sensor sensitivity from the untreated silica. The use of alkaline earth hydroxides made the immobilization of the indicator dye difficult to such a degree that, in the presence of Ba(OH)<sub>2</sub>, the silica gel microspheres were not stained at all. As described in the literature, divalent cations chemisorb on silica at high pH values (> 7.5) and are not readily desorbed.<sup>45</sup> In this way, the presence of Ba<sup>2+</sup> on the basic SiO<sub>2</sub> would hinder binding of the divalent Ru(II) complexes. Moreover, these alkaline earth cations form surface-bound Si–O–M(OH)<sup>+</sup> complexes, reducing the number of free silanoxides groups on the surface.<sup>45</sup> Finally, the use of aqueous organic bases such as triethylamine and ethylamine, or 1,4- diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO) and potassium *tert*-butoxide in acetonitrile, did not improved the sensor sensitivity. These non-nucleophilic bases are unable to open the siloxane bridges to silanoxide groups, and only deprotonate the surface silanol groups to produce a mild improvement of the sensitivity. Therefore, NaOH was used for further H<sub>2</sub>S sensing layers preparation.

#### 2.3.3.2. Effect of the indicator dye

The sensitivity of the various H<sub>2</sub>S indicator dyes immobilized on silica gel microspheres was also investigated. Considering the phase shift values measured with the OSA (Figure 2A), better sensitivities (higher  $\Delta\phi$ ) were achieved as phenanthroline ligands were sequentially replaced with TAP ligands, in agreement with the respective quenching constants ( $k_q$ ) determined in solution (Table 1). However, as depicted in Figure 2B, a higher number of TAP moieties in the Ru(II)-polypyridyl led to more photolabile species. The known instability that TAP confers to the Ru(II) complex is attributed to the weaker  $\sigma$ -donation of this ligand compared to bipyridine or phenanthroline. This weak ligand field strength lowers the energy of the (dissociative) <sup>3</sup>MC level, approaching it to the luminescent <sup>3</sup>MLCT state. Consequently, a

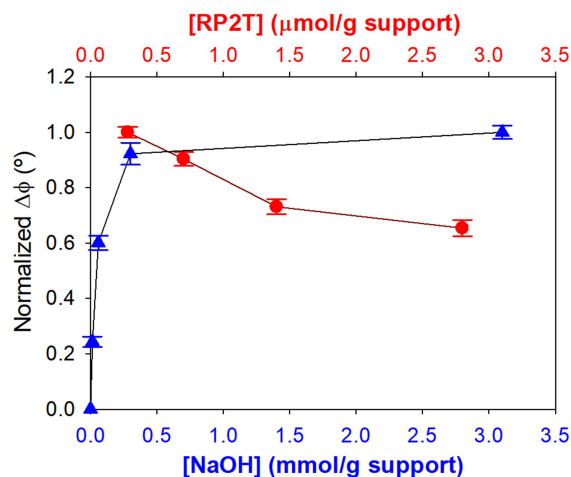
very efficient temperature-activated  $^3\text{MLCT} \rightarrow ^3\text{MC}$  crossing occurs (Supporting Information, Figure S14). Therefore, RP2T was selected as the optimum indicator dye for the  $\text{H}_2\text{S}$  sensor fabrication as a compromise between sensitivity and photostability.



**Figure 2.** A) Sensitivity to  $\text{H}_2\text{S}$  in the 0–10 ppmv range (in terms of the luminescence phase shift excursion) of the Ru(II) indicator dyes on alkali-treated  $\text{SiO}_2$  microspheres. B) Photodegradation rate of the indicators dyes on alkali-treated  $\text{SiO}_2$  microspheres at 0 ppmv of  $\text{H}_2\text{S}$ . Each point of the plot corresponds to the normalized luminescence intensity of the  $\text{H}_2\text{S}$  sensor in the absence of analyte, measured after a full calibration curve; 12  $\mu\text{W}$  excitation intensity during 40.5 s per h.

#### 2.3.3.3. Indicator dye and base concentration

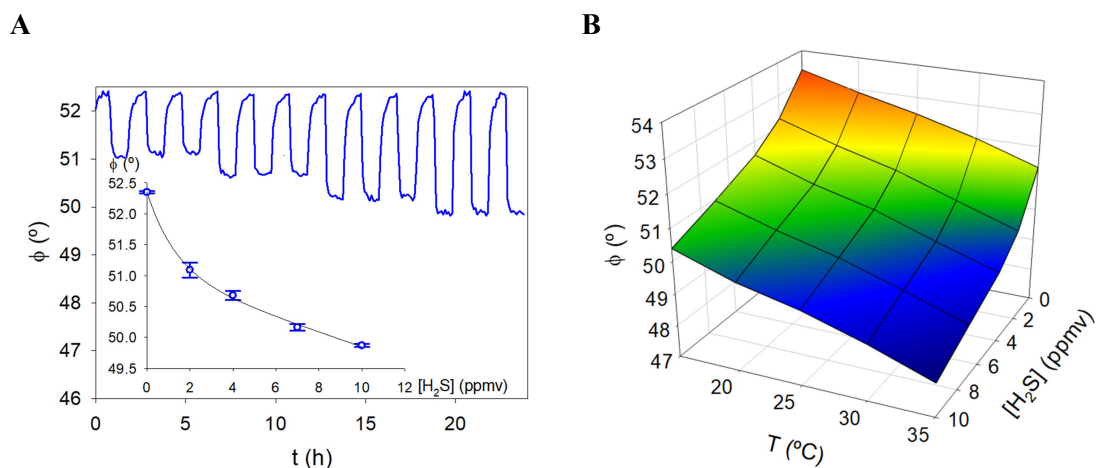
Given the effect of both the indicator dye and concentration of base on the  $\text{H}_2\text{S}$  response, sensing layers with different amounts of NaOH and RP2T were prepared and their response was compared in terms of the emission phase shift excursion ( $\Delta\phi$ ) (Figure 3). High amounts of dye molecules produce aggregation and, therefore, self-quenching of the luminescent (triplet) excited state, while a low concentration of the indicator leads to poor signal-to-noise ratio. The best sensitivity was achieved for 0.7  $\mu\text{mol}$  of indicator dye per gram of  $\text{SiO}_2$  microspheres. Likewise, NaOH concentrations in the 0.0–3.1 mmol per gram of silica gel range were employed in the immobilization process. As depicted in Figure 3, a significant increase in the sensor sensitivity was observed as the concentration of NaOH was increased. However, no further improvement occurred above 0.4 mmol of NaOH per gram of silica gel microspheres, probably because at such high concentrations the silica surface is saturated with silanoxide groups. Consequently, 0.5 mmol  $\text{g}^{-1}$  NaOH were employed to ensure the maximum sensitivity and an adequate reproducibility of the sensing layer.



**Figure 3.** Sensitivity of RP2T as a function of the amount of indicator dye immobilized on the SiO<sub>2</sub> microspheres support (solid red circles) and the amount of NaOH used in the immobilization procedure (solid blue triangles).  $\Delta\phi_{0-10}$  is the phase shift excursion from 0 to 10.0 ppmv of H<sub>2</sub>S in N<sub>2</sub>. Confidence intervals  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level);  $n = 3$ .

### 2.3.4. Analytical characterization

The best luminescent H<sub>2</sub>S-sensitive layer (RP2T/SiO<sub>2</sub> microspheres/0.5 mmol NaOH g<sup>-1</sup> of support) was calibrated in the 0–10 ppmv range at different temperatures (10–35 °C). Figure 4 depicts the sensor response function, the corresponding dose-response plot, and the resulting calibration surface of the H<sub>2</sub>S sensor.



**Figure 4.** A) Luminescent H<sub>2</sub>S sensor response function and corresponding dose-response plot at  $25 \pm 2$  °C. Confidence intervals  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level). B) H<sub>2</sub>S sensor calibration surface obtained at different H<sub>2</sub>S concentrations and at different temperatures (10–35 °C).

The observed plots were nonlinear, so that equation E 2 was used to fit the experimental points of the calibration curve at each temperature. The analytical features (dynamic range, LOD, LOQ, response time, recovery time and drift) of the novel luminescent H<sub>2</sub>S sensor were evaluated thereof (Table 3).

$$y = y_0 + ax^b \quad (\text{E } 2)$$

**Table 3.** Analytical features of the H<sub>2</sub>S luminescent sensor at 25 ± 0.2 °C.

Parameter	Value
Dynamic range	0–50 ppmv
Limit of detection (LOD) <sup>a</sup>	0.025 ± 0.005 ppmv
Limit of quantification (LOQ) <sup>a</sup>	0.34 ± 0.03 ppmv
Response time ( <i>t</i> <sub>90</sub> ) <sup>b</sup>	240 s
Recovery time ( <i>t</i> <sub>-90</sub> ) <sup>b</sup>	240 s

<sup>a</sup> LOD of the H<sub>2</sub>S sensors is based on three times the standard deviation of 41 samples of 0 ppmv H<sub>2</sub>S and LOQ is based on 10 times the standard deviation of 41 samples of 0 ppmv H<sub>2</sub>S. <sup>b</sup> For 4–7 ppmv H<sub>2</sub>S concentration (*n* = 3); data acquired every 120 s.

The H<sub>2</sub>S sensor precision was evaluated in terms of repeatability and reproducibility. For repeatability studies, each H<sub>2</sub>S concentration was measured *n* times consecutively using the same sensitive layer and the phase shift excursion ( $\Delta\phi$ ) was compared in terms of the relative standard deviation (RSD). To test reproducibility, the response ( $\Delta\phi$ ) of three different sensing layers was compared in terms of RSD. The results are summarized in Table 4.

**Table 4.** Repeatability and reproducibility of the H<sub>2</sub>S measurements with the luminescent optode.

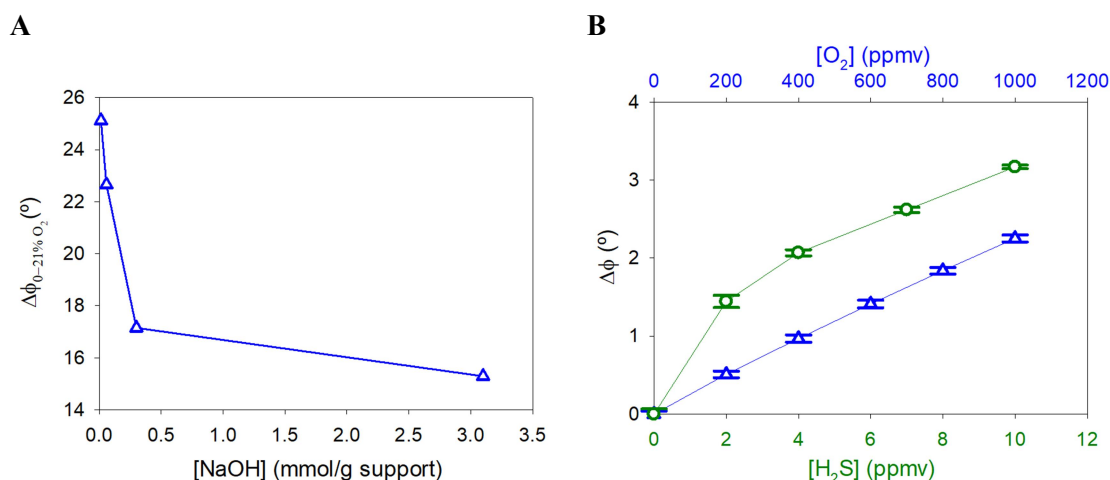
[H <sub>2</sub> S] (ppmv)	Repeatability			Reproducibility		
	$\Delta\phi$ (°) <sup>a</sup>	RSD (%) <sup>b</sup>	<i>n</i> <sup>c</sup>	$\Delta\phi$ (°) <sup>a</sup>	RSD (%) <sup>b</sup>	<i>n</i> <sup>c</sup>
2	1.46 ± 0.04	3.2	10	1.456 ± 0.01	0.40	3
4	2.06 ± 0.03	2.0	10	2.07 ± 0.04	1.1	3
7	2.68 ± 0.02	1.2	10	2.68 ± 0.07	1.4	3
10	3.07 ± 0.03	1.1	8	3.1 ± 0.1	1.9	3

<sup>a</sup> Phase shift excursion from 0 to each [H<sub>2</sub>S] in CH<sub>4</sub>; 25.0 ± 0.2 °C, 50 mL min<sup>-1</sup> flow, 156 kHz modulation frequency, and 5 μW excitation intensity. Confidence intervals ± *t* *s*<sub>*n*-1</sub> *n*<sup>-1/2</sup> (at 95% confidence level). <sup>b</sup> RSD is the relative standard deviation. <sup>c</sup> *n* = number of measurements.

The interference of O<sub>2</sub> (0–21% by volume in CH<sub>4</sub>) on the luminescent H<sub>2</sub>S sensor was evaluated. As reported in the literature, the <sup>3</sup>MLCT emission of Ru(II) complexes bearing chelating polyazaheterocyclic ligands is, to a greater or lesser extent, sensitive to O<sub>2</sub>.<sup>30</sup> An adequate selection of the solid support can diminish or even prevent the O<sub>2</sub> interference.<sup>41</sup> As shown in Figure 5A, the activation of the SiO<sub>2</sub> microspheres with NaOH diminishes the O<sub>2</sub> interference. Probably, the presence of the negatively charged silanoxide groups on the silica surface decreases the O<sub>2</sub> adsorption and, thereby, the luminescence quenching of the adsorbed indicator. Furthermore, a comparison of the sensor sensitivity towards H<sub>2</sub>S and O<sub>2</sub> was carried out (Figure 5B). For instance, the sensor is 375-fold more sensitive to H<sub>2</sub>S than to O<sub>2</sub> in the 0–2



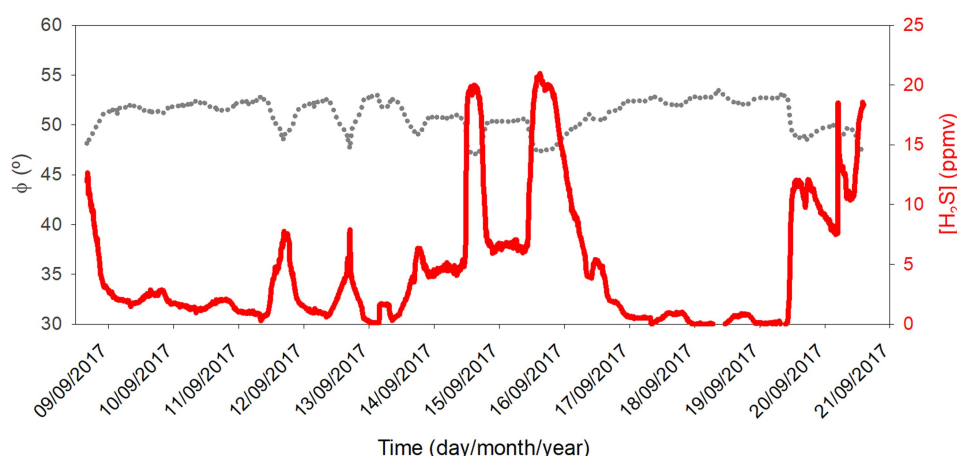
ppmv H<sub>2</sub>S concentration range and 104-fold in the 2–10 ppmv range. This O<sub>2</sub> effect is negligible for H<sub>2</sub>S in (bio)methane monitoring, where concentrations of the former gas do not exceed 100 ppmv.



**Figure 5.** A) Sensitivity of RP2T immobilized on SiO<sub>2</sub> microspheres to 21% O<sub>2</sub> (air) as a function of the amount of NaOH used in the immobilization process. B) Sensitivity of immobilized RP2T to 1000 ppmv O<sub>2</sub> in CH<sub>4</sub> (open blue triangles) compared to its sensitivity to 10 ppmv H<sub>2</sub>S in CH<sub>4</sub> (open green circles) at 23 ± 2 °C; confidence intervals ±  $t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level,  $n = 3$ ).

### 2.3.5. Application to biomethane monitoring in a production plant

The luminescent H<sub>2</sub>S sensor was installed on line at a biomethane production plant in Southern Spain. The OSA analyzer was continuously monitoring H<sub>2</sub>S for more than six months. From the measuring cell temperature and the luminescence phase shift data acquired every 6 min, the H<sub>2</sub>S concentration was automatically calculated by linear interpolation in the calibration surface depicted in Figure 4B.



**Figure 6.** Continuous real-time in situ monitoring of the H<sub>2</sub>S concentration (red line), with the developed luminescent sensor, and emission phase shift (dark-gray dotted line) in the biomethane of a production plant.

A representative trace over 10 days is shown in Figure 6. As expected, H<sub>2</sub>S levels as high as 20 ppmv were reached during the daily 9:00–17:00 h production cycle of the biomethane plant (production is halted during weekends). Out of this working schedule, the H<sub>2</sub>S levels correspond to the biomethane stemming from the storage cylinders. All the data displayed are corrected for the instant temperature readings so that they always correspond to the actual H<sub>2</sub>S levels.

The luminescent sensor H<sub>2</sub>S readings were compared to the discreet analyte levels provided by an Agilent micro gas chromatograph installed in the same control booth, observing a good match between the two values (Supporting Information, Figure S15). Long operation periods lead to a progressive loss of sensor sensitivity ( $0.0635^{\circ} \text{ day}^{-1}$ ). However, an automatic cleaning system installed in the OSA sensor system was adequate for restoring the sensor material sensitivity. Under these conditions, the H<sub>2</sub>S luminescent sensor demonstrated a stable performance and an operational lifetime of over 6 months.

## 2.4. Conclusions

The novel H<sub>2</sub>S luminescent sensor is a superior alternative to existing monitoring technologies (GC-TCD, electrochemical, lead acetate tape, and UV absorption) for real-time in situ monitoring of this analyte in (bio)methane gas streams. This is due to the combination of its high sensitivity, good selectivity and stability (more than six months continuously operating in an up-scaled biomethane production plant), along with the ease of operation, low maintenance, and affordable cost. Moreover, its reversible response (no need to “regenerate”) makes it adequate for continuous monitoring unlike the current reaction-based dosimeters. The performance of our sensor compared to the best reported ones is shown in Supporting Information, Table S1. Other applications of the developed sensor are being explored (atmospheric measurements in sewage sludge digesters of wastewater treatment plants, personal safety of sewer workers, natural gas or ultrapure gases quality monitoring) to demonstrate the versatility of the novel H<sub>2</sub>S optical sensor system.

## 2.5. Supporting information

### 2.5.1. State-of-the-art in H<sub>2</sub>S sensor devices

**Table S1.** State-of-the-art in H<sub>2</sub>S sensor device

Method	Material	Dyn. Range	LOD	$t_{90}$ (s)	$t_{-90}$ (s)	Reversible	Sample	Application	Ref.
Chemoresistive	Au nanoparticles functionalized polyaniline nanowires	0–100 ppbv	0.1 ppbv	120	300	Yes	Gas	Lab tests	[46]
Chemoresistive	SnO <sub>2</sub> quantum wire/reduced graphene oxide nanocomposite	0–100 ppmv	43 ppbv	2	292	Yes	Gas	Lab tests	[47]
Electrochemical	YSZ solid electrolyte/La <sub>2</sub> NiO <sub>4</sub> sensing electrode	0–2 ppmv	20 ppbv	72	150	Yes	Gas	Lab tests	[48]
Electrochemical	SPE-Pt electrode	0–1000 ppmv	-	6.3	-	Yes	Gas	Lab tests	[49]
Electrochemical	Glassy carbon electrode (GCE)	0–596 $\mu$ M	< 100 nM	< 100	-	Yes	Liquid	Lab tests	[50]
Piezoelectric	Triethanolamine-coated surface acoustic wave (SAW) system	0–50 ppmv	0.15 ppmv	7–18	22	Yes	Gas	Lab tests	[51]
Optical	Pd(II) complex in cellulose filter	8–110 ppbv	2 ppbv	900	-	No	Gas	Lab tests	[22]
Optical	Fluorescein mercury acetate in cellulose filter	16–67 ppbv	3 ppbv	60	-	No	Gas	Wastewater treatment plant	[17]
Optical	Animidazolethione fluorescent probe in cellulose acetate membrane	0–4 ppmv	0.7 ppmv	60	-	No	Gas	Lab tests	[23]
Optical	Molybdenum sulfide/citric acid composite membrane-coated long period fiber grating (LPFG)	1–70 ppmv	0.5 ppmv	89	97	Yes	Gas	Lab tests	[52]
Optical	Fluorescent Zn-based MOF probe	0–18 $\mu$ mol/Ml	28 nmol/mL	600	-	No	Gas	Natural gas sample	[26]

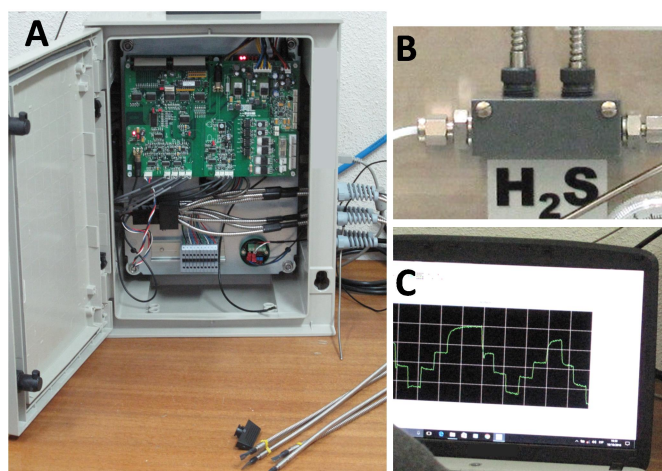
**Table S1.** State-of-the-art in H<sub>2</sub>S sensor device (cont.)

Method	Material	Dyn. Range	LOD	$t_{90}$ (s)	$t_{-90}$ (s)	Reversible	Sample	Application	Ref.
Optical	Fluorescent MOF with Eu <sup>3+</sup> and Cu <sup>2+</sup> ions	0–625 $\mu$ M	5.45 $\mu$ M	30	-	No	Liquid	Lab tests	[27]
Optical	Carbon dots-naphthalimide azide FRET sensor	1–10 $\mu$ M	19.5 nM	< 900	-	No	Liquid	Lab tests	[53]
Optical	Phosphorescent PbO/SiO <sub>2</sub> nanocomposite	2.67–596 $\mu$ M	0.138 $\mu$ M	< 600	-	No	Liquid	Spiked water Wastewater	[54]
Optical	Phosphorescent ZnO/SiO <sub>2</sub> nanocomposite	48.8–102 $\mu$ M	1.64 $\mu$ M	< 600	-	No	Liquid	Spiked water Wastewater	[55]
Optical	Ru(II) polypyridyl on silica microspheres	0–50 ppmv	25 ppbv	< 240	<240	Yes	Gas	Biomethane production plant	<i>This work</i>

## 2.5.2. Field-deployable fiberoptic instrument developed in our research group

### 2.5.2.1. Optical sensor system

The “OSA” Optical Sensor System is able to monitor up to four target parameters simultaneously (e.g. O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>), or a single parameter in different locations, using dedicated opto-electronic components and specific Ru(II)-polypyridyl indicator dyes immobilized on tailored polymer supports. The OSA system comprises two parts: the optoelectronic unit and the sensors module (including the flow-through cell), connected to each other by 0.91 m bifurcated borosilicate glass optical fiber bundles, with a fiber bundle diameter of 3.2 mm at the common end (Rockwell Automation, Milwaukee, WI). In order to protect the immobilized H<sub>2</sub>S-sensitive dyes from photodegradation, the excitation is performed with 40-mcd 470-nm blue LEDs (RS Amidata, Madrid, Spain), digitally modulated at 39, 78 or 156 KHz (user selectable). The optical module contains a 450-nm CS5-60 colored band-pass filter (100 nm FWHM) (Koop Glass, Pittsburg, USA) in the excitation channel, and a 570-nm long-pass filter (OG570 Schott, Mainz, Germany) in the emission channel. The luminescence from the four sensitive terminals is detected with a single H11901-01 compact photomultiplier module (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, JP). The reference signal is obtained directly from the excitation blue LEDs with one Vishay BPW24R (RS Amidata) photodiode per optical channel. The instrument configuration and data are stored in the OSA Optical Sensor System unit and can be transferred at any time to and from a laptop computer via the RS232 or USB ports, using proprietary Windows-based software. Remote two-channel temperature (LM335Z type, −3 to 70 °C) data were also collected by the system to correct the sensor response for temperature effects (room and device temperature). Additionally, the OSA unit controls a home-made thermostatic system based on a Peltier cell, a ventilated heatsink, a thermal insulator and a Pt-100 probe, working in the 5–50 °C temperature range ( $\pm 0.2$  °C).



**Figure S1.** OSA optoelectronic unit (A) and 2-sensor module (B) developed in our research group for this work, and optical response profile of the H<sub>2</sub>S luminescent sensor (C).

### 2.5.2.2. Flow and pressure control system

It consists of a H800SSSL1/8T 3-way valve (Ham-Let, Tel Aviv, Israel) that enables selection of either the biomethane sample or the calibration gas, a H300USSLR1/8-RS needle valve (Ham-Let) to control the gas flow. The latter is measured with a FM402-15 rotameter (Aalborg, New York, USA) located just after the needle valve and before the flow cell, and a EXBS2546-01 backpressure regulator (AURA, Virginia, USA) placed at the system outlet to fix the target pressure (3.44 bar over the atmospheric pressure).

### 2.5.3. Luminescent probes synthesis and characterization

#### 2.5.3.1. Synthesis of RP3

Tris(1,10-phenanthroline)ruthenium(II) dichloride (RP3) was prepared from commercial Ru(III) chloride hydrate (Alfa Aesar) and the corresponding chelating ligand, 1,10-phenanthroline (Merck), following the established procedure<sup>56</sup> and carefully purified by repeated reprecipitation. **<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OH):**  $\delta$ /ppm 7.63 (dd,  $J = 8.4$  Hz and 5.4 Hz, 6H), 8.03 (d,  $J = 5.4$  Hz, 6H), 8.26 (s, 6H), 8.61 (d,  $J = 8.4$  Hz, 6H). **MS (ESI+):**  $m/z$  [M]<sup>+</sup> calculated for C<sub>36</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>Ru 642.111, found 641.897.

#### 2.5.3.2. Synthesis of RT3 and RBPZ3

Tris(1,4,5,8-tetraazaphenanthrene)ruthenium(II) dichloride (RT3) and tris(2,2'-bipyrazine)ruthenium(II) dihexafluorophosphate (RBPZ3) were prepared as described in the literature from the commercial ligands.<sup>37,57</sup>

**RT3 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN):**  $\delta$ /ppm 8.36 (d,  $J = 2.7$  Hz, 6H), 8.62 (s, 6H), 9.00 (d,  $J = 2.7$  Hz, 6H). **MS (ESI+):**  $m/z$  [M]<sup>2+</sup> calculated for C<sub>30</sub>H<sub>18</sub>N<sub>12</sub>Ru 324.04; found 324.0.

**RBPZ3 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO):** 10.12  $\delta$ /ppm (s, 6H), 8.71 (d, 6H,  $J = 3.3$  Hz), 8.00 (d, 6H,  $J = 3.3$  Hz). **MS (ESI+):**  $m/z$  [M]<sup>2+</sup> calculated for C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>N<sub>12</sub>Ru 288.04; found 287.9; [M]<sup>+</sup> calculated for [C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>N<sub>12</sub>Ru]<sup>+</sup> 576.08; found 576.0; [M + Cl]<sup>+</sup> calculated for [C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>12</sub>Ru]<sup>+</sup> 611.05; found 610.9; [M + PF<sub>6</sub>]<sup>+</sup> calculated for [C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>N<sub>12</sub>PRu]<sup>+</sup> 721.05; found 720.9.

#### 2.5.3.3. Synthesis of RP2T and RPT2

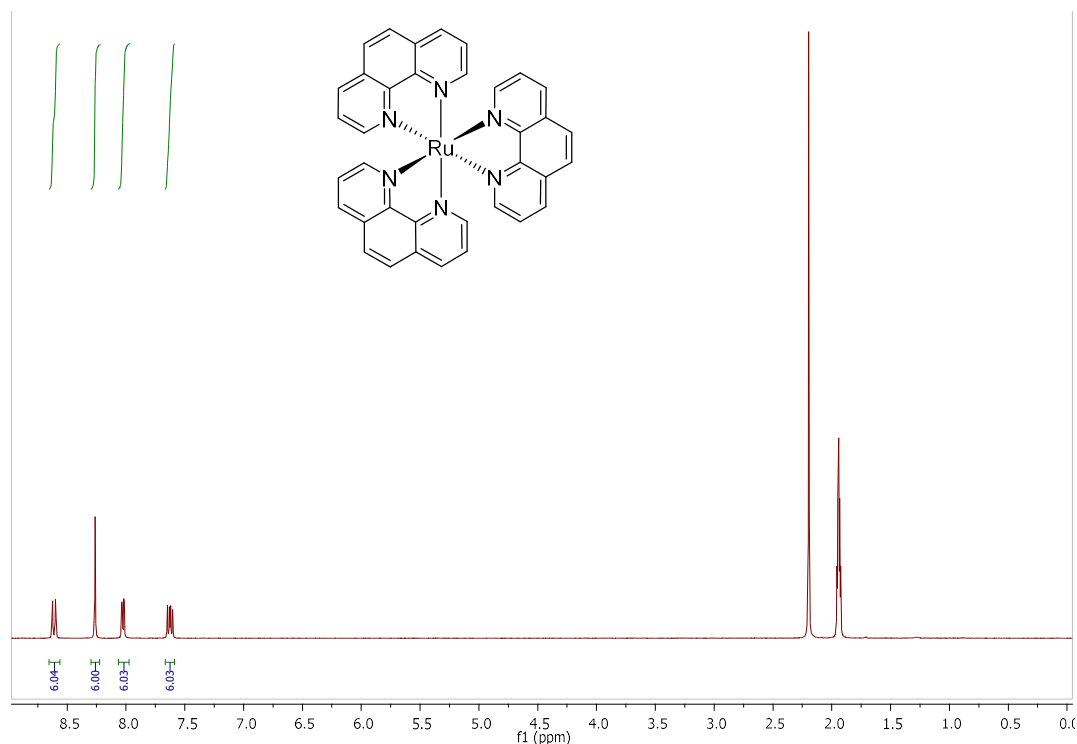
[Bis(1,10-phenanthroline)(1,4,5,8-tetraazaphenanthrene)]ruthenium(II) dihexafluorophosphate and [(1,10-phenanthroline)bis(1,4,5,8-tetraazaphenanthrene)]ruthenium(II) dihexafluorophosphate were obtained from Ru(phen)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and Ru(TAP)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,

respectively, and the corresponding chelating ligands (1,4,5,8-tetraazaphenanthrene, Janssen, and 1,10-phenanthroline, Panreac), according to the Sullivan et al. method.<sup>58</sup> The dichloro bis-complexes Ru(phen)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and Ru(TAP)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> were prepared from ruthenium(III) chloride hydrate (Alfa Aesar) and the corresponding ligands following the procedure of Sullivan et al.<sup>4</sup> The RP2T and RT2P complexes were purified in a SP Sephadex C-25 column using aqueous NaCl (0.1 M), as the eluent, and were precipitated as hexafluorophosphate salts by addition of some drops of saturated aqueous NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> (Alfa Aesar) solution, filtered and dried.

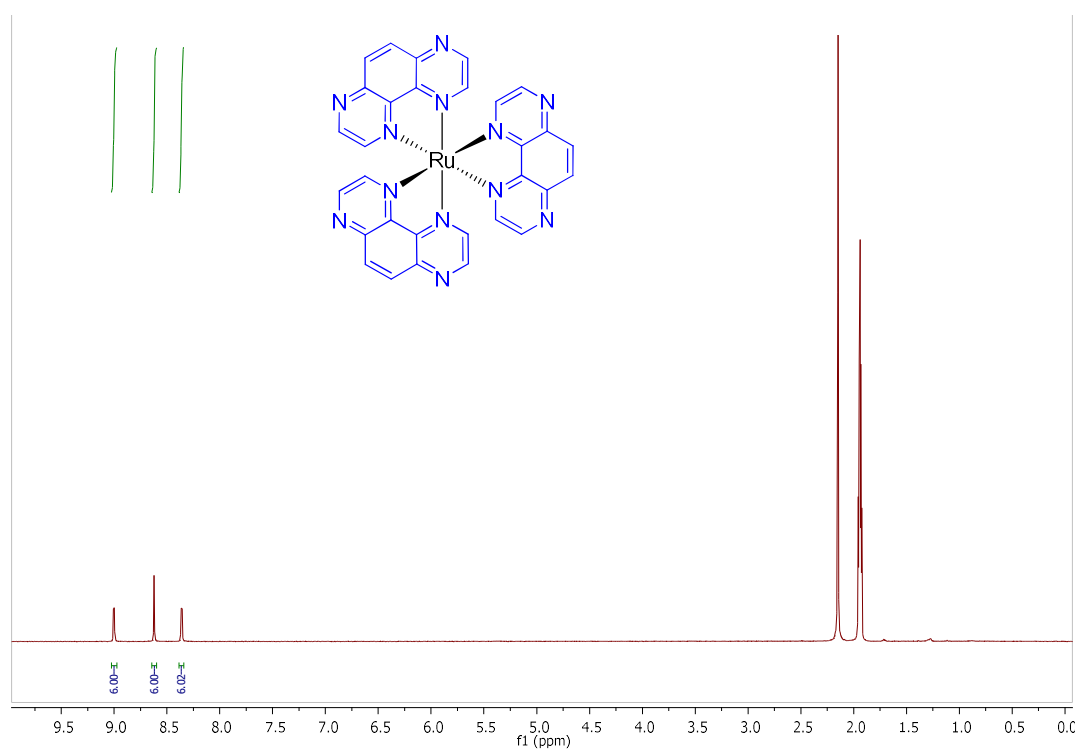
**RP2T <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN):**  $\delta$ /ppm 7.66 (m, 4H), 7.99 (d,  $J$  = 4.8, 2H), 8.08 (d,  $J$  = 5.1, 2H), 8.15 (d,  $J$  = 2.7, 2H), 8.27 (s, 4H), 8.57 (s, 2H), 8.65 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 4H), 8.88 (d,  $J$  = 2.7 Hz, 2H). **MS (ESI+):**  $m/z$  [M]<sup>2+</sup> calculated for C<sub>34</sub>H<sub>22</sub>N<sub>8</sub>Ru 322.05; found 322.1;  $m/z$  [M]<sup>+</sup> calculated for C<sub>34</sub>H<sub>22</sub>F<sub>6</sub>N<sub>8</sub>PRu 789.07; found 789.1.

**RPT2 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN):**  $\delta$ /ppm 7.69 (dd,  $J$  = 8.2 Hz and 5.3 Hz, 2H), 8.10 (d,  $J$  = 5.3, 2H), 8.11 (d,  $J$  = 2.4, 2H), 8.23 (d,  $J$  = 2.7, 2H), 8.29 (s, 2H), 8.60 (s, 4H), 8.70 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 8.94 (t,  $J$  = 2.7 and 2.4 Hz, 4H). **MS (ESI+):**  $m/z$  [M + PF<sub>6</sub>]<sup>+</sup> calculated for C<sub>32</sub>H<sub>20</sub>F<sub>6</sub>N<sub>10</sub>PRu 791.06; found 791.1.

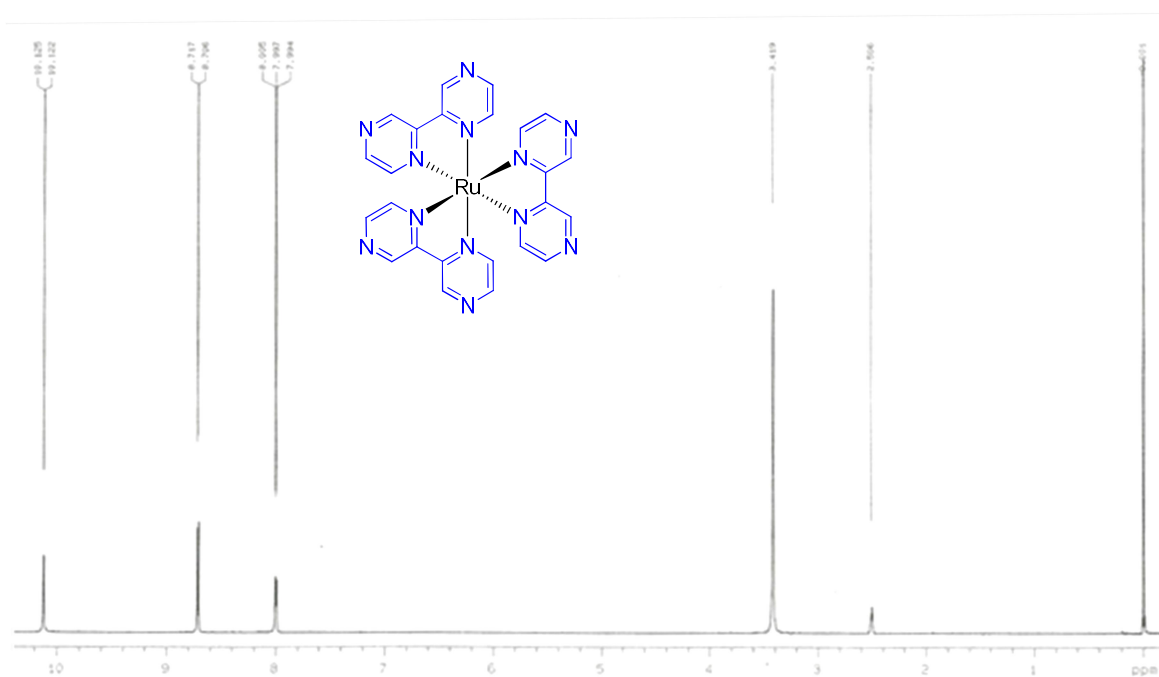
<sup>1</sup>H NMR spectra were recorded on a Bruker DPX 300 MHz BACS-60 spectrometer (UCM Central Instrumentation Facilities). Mass spectra were acquired on a Bruker Esquire LC-Ion Trap spectrometer (UCM CIF) or on a Bruker Ultraflex MALDI-TOF spectrometer (UCM-CIF).



**Figure S2.** <sup>1</sup>H NMR spectrum of RP3 (in CD<sub>3</sub>OD).

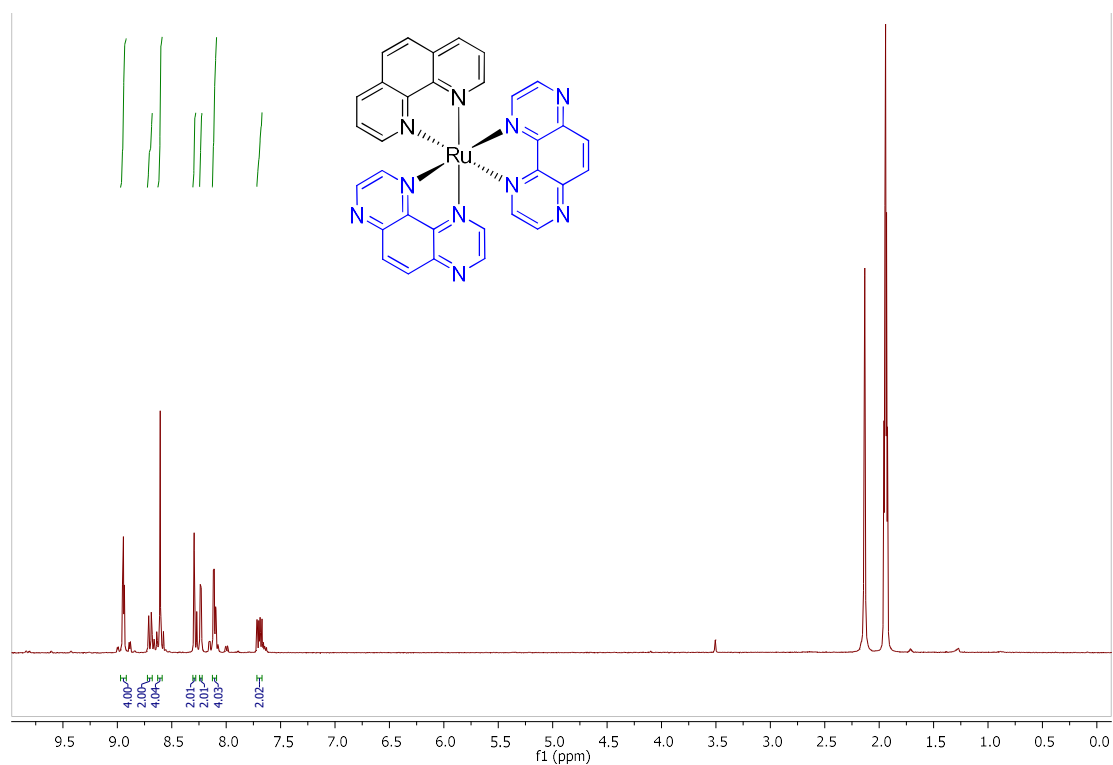


**Figure S3.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of RT3 (in  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

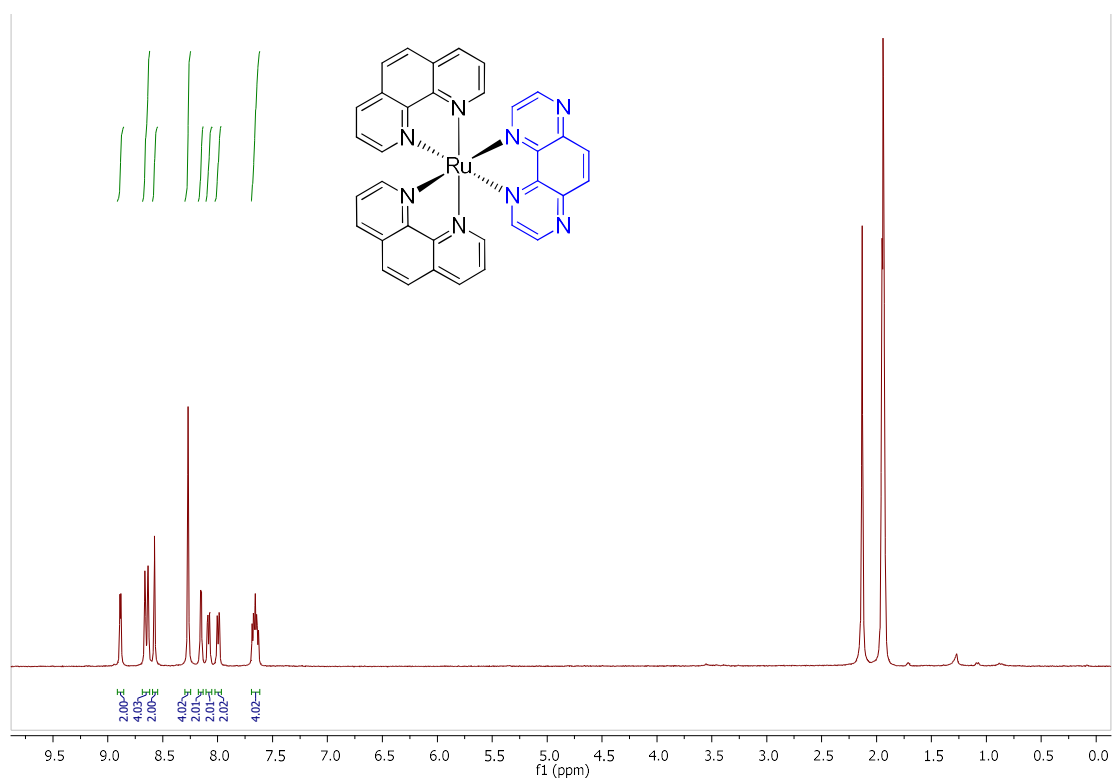


**Figure S4.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of RBPZ3 (in DMSO).

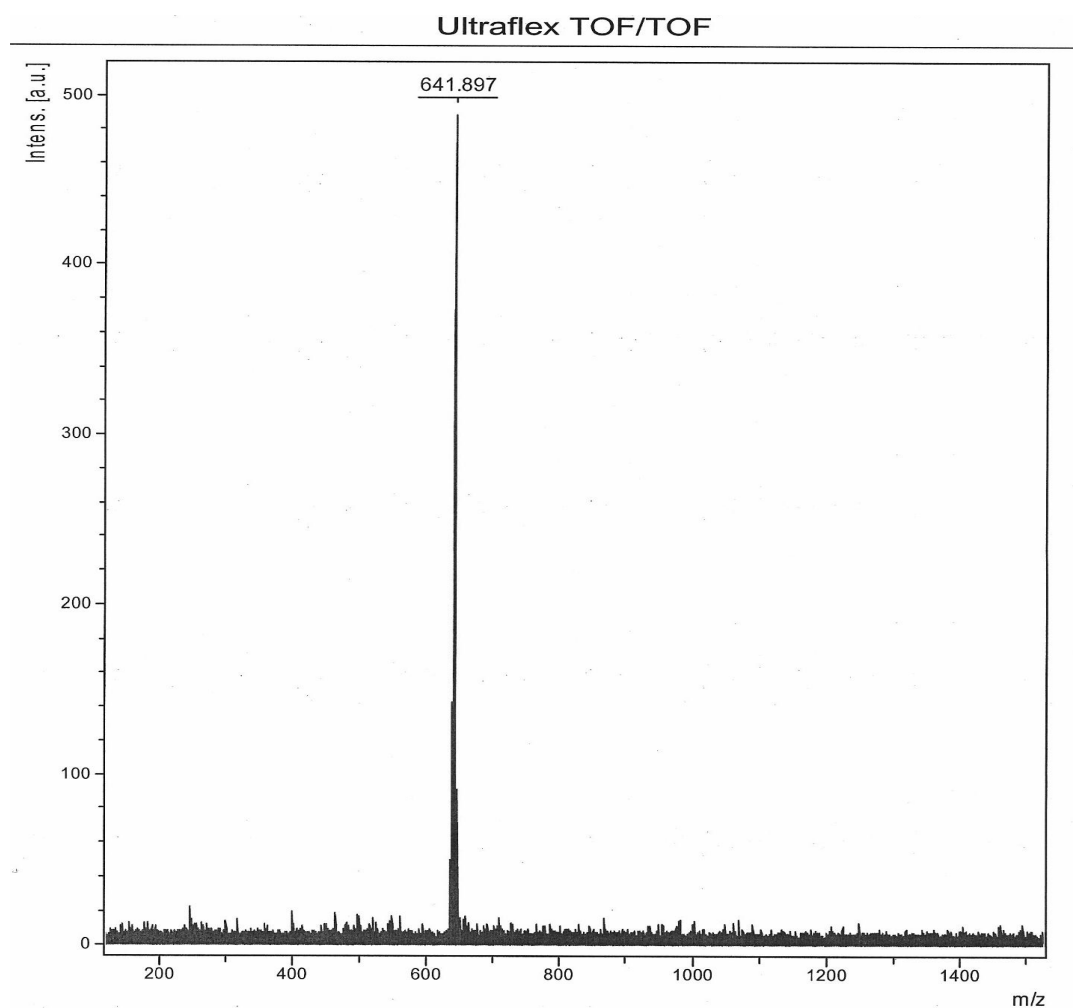




**Figure S5.** <sup>1</sup>H NMR spectrum of RPT2 (in CD<sub>3</sub>OD).

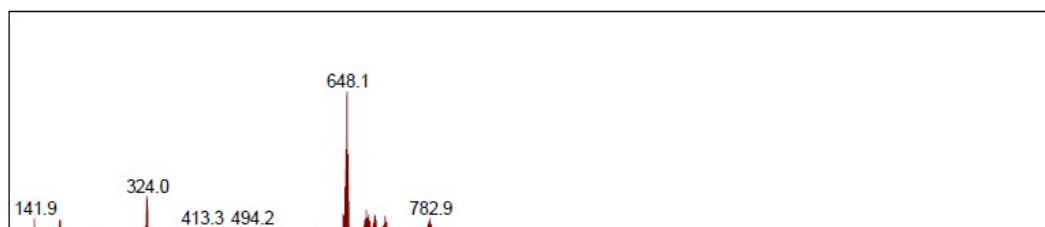


**Figure S6.** <sup>1</sup>H NMR spectrum of RP2T (in CD<sub>3</sub>OD).

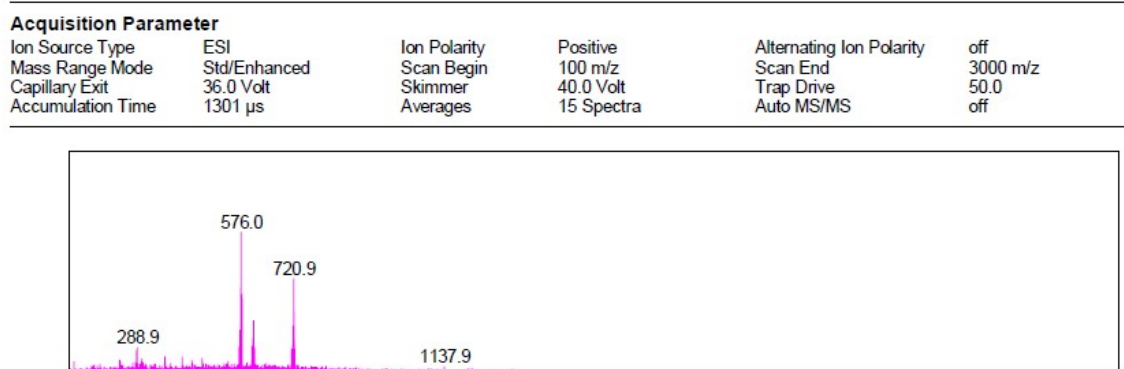


**Figure S7.** Mass spectrum of RP3 recorded by matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI).  $m/z$ :  $[M]^+$  calcd. for  $[C_{36}H_{24}N_6Ru]^+$ , 642.111; found, 641.897.

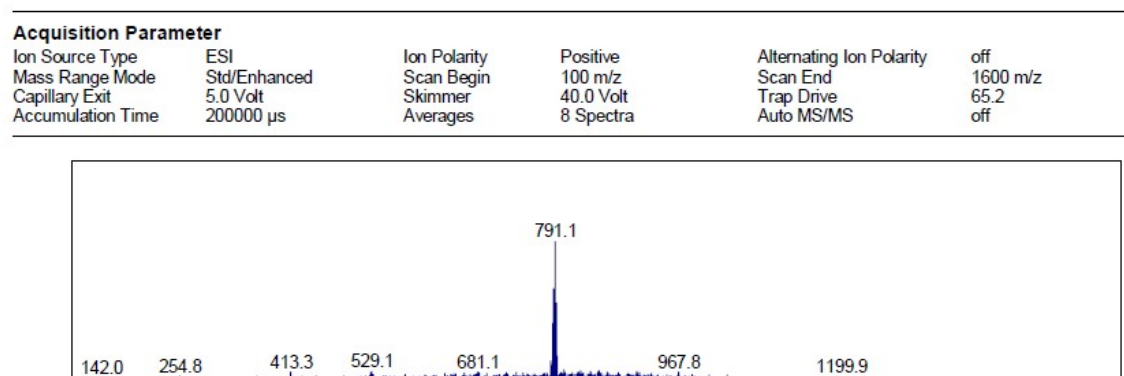
Acquisition Parameter					
Ion Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Alternating Ion Polarity	off
Mass Range Mode	Std/Enhanced	Scan Begin	100 $m/z$	Scan End	1800 $m/z$
Capillary Exit	23.0 Volt	Skimmer	40.0 Volt	Trap Drive	50.0
Accumulation Time	1606 $\mu s$	Averages	8 Spectra	Auto MS/MS	off



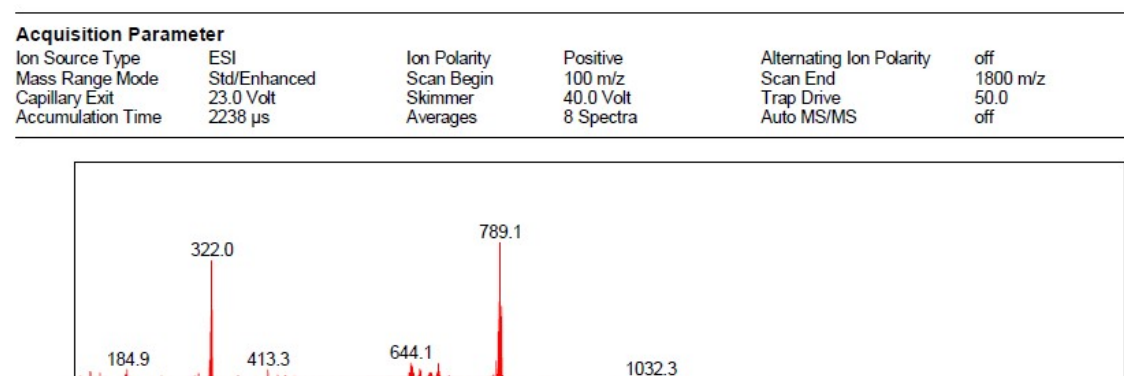
**Figure S8.** Mass spectrum of RT3 recorded in MeOH by electrospray ionization in positive detection mode;  $m/z$ :  $[M]^{2+}$  calcd. for  $[C_{30}H_{18}N_{12}Ru]^{2+}$ , 324.04; found, 324.0;  $[M]^+$  calcd. for  $[C_{30}H_{18}N_{12}Ru]^+$ , 648.08; found, 648.1.



**Figure S9.** Mass spectrum of RBPZ3 recorded in MeOH by electrospray ionization in positive detection mode; m/z:  $[M]^{2+}$  calcd. for  $[C_{24}H_{18}N_{12}Ru]^{2+}$ , 288.04; found 288.9;  $[M]^+$  calcd. for  $[C_{24}H_{18}N_{12}Ru]^+$ , 576.08; found 576.0;  $[M + Cl]^+$  calcd. for  $[C_{24}H_{18}ClN_{12}Ru]^+$ , 611.05; found 610.9;  $[M + PF_6]^+$  calcd. for  $[C_{24}H_{18}F_6N_{12}PRu]^+$ , 721.05; found, 720.9.

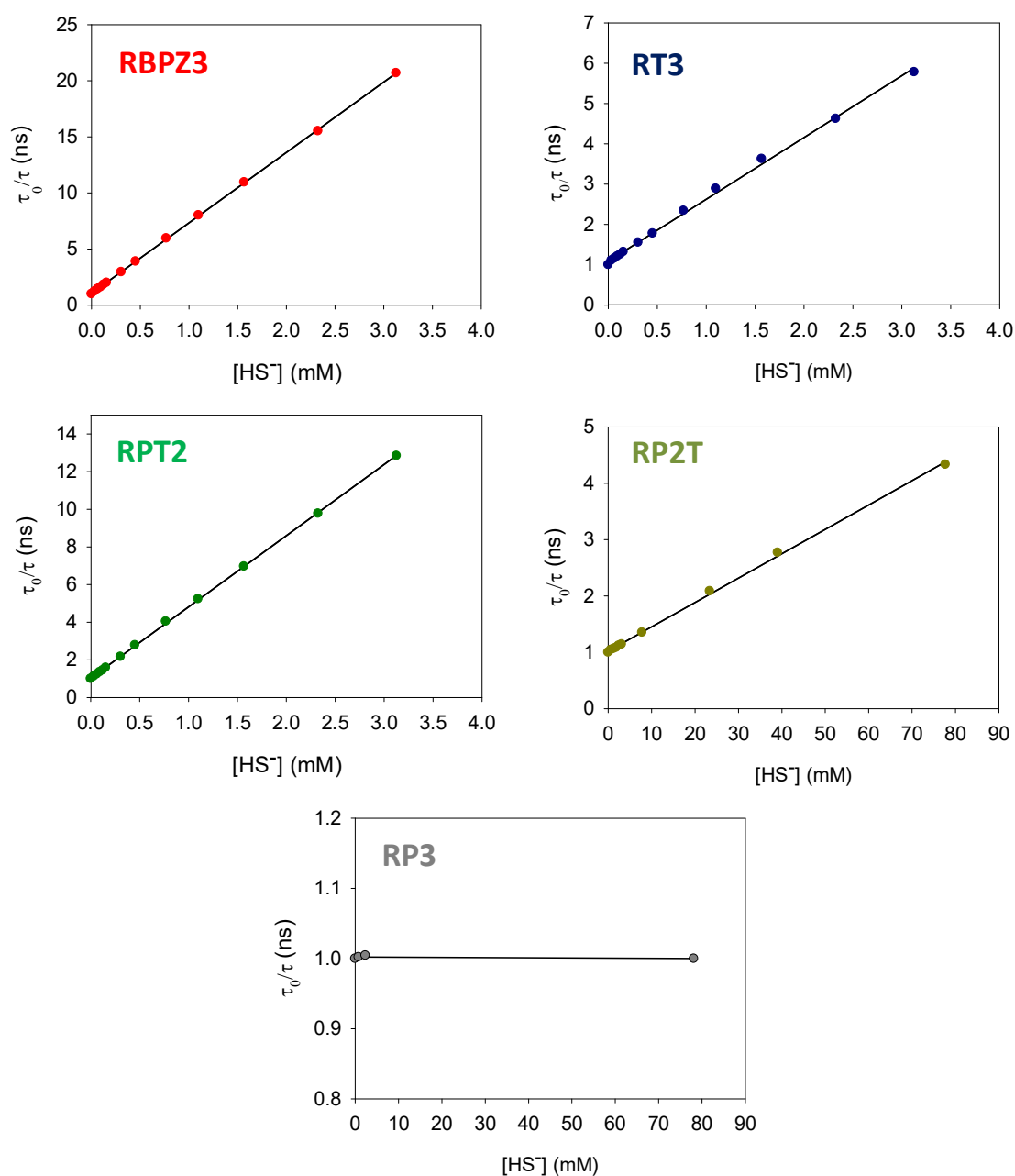


**Figure S10.** Mass spectrum of RPT2 recorded in MeOH by electrospray ionization in positive detection mode; m/z:  $[M + PF_6]^+$  calcd. for  $C_{32}H_{20}F_6N_{10}PRu$  791.06, found 791.1.

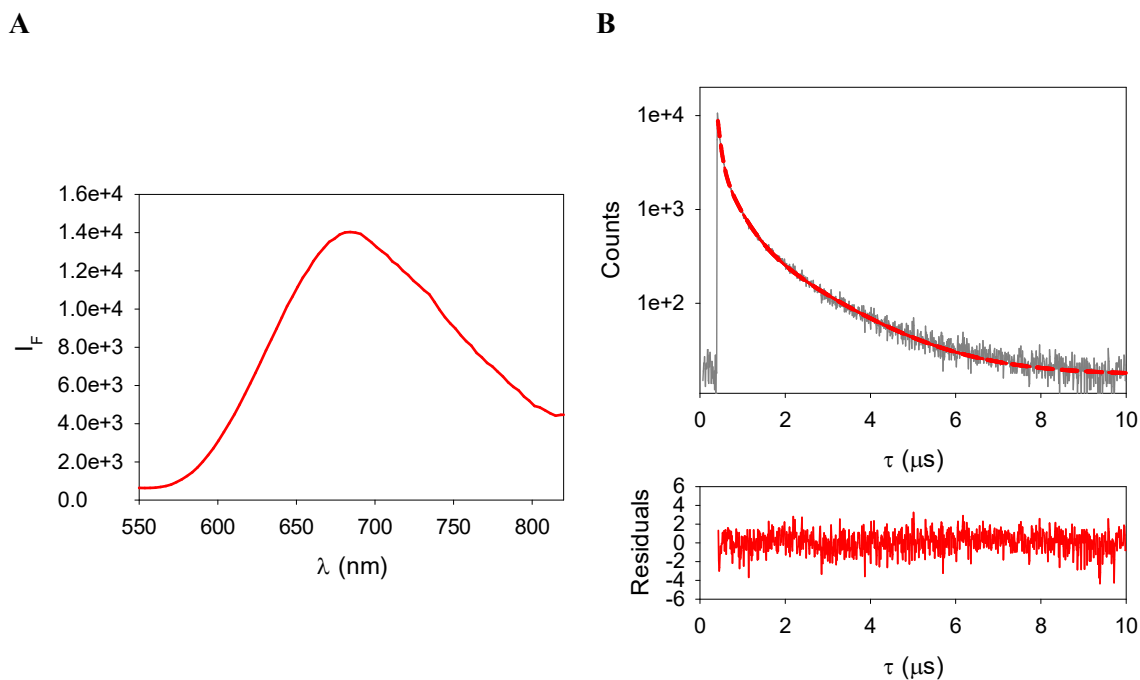


**Figure S11.** Mass spectrum of RP2T recorded in MeOH by electrospray ionization in positive detection mode; m/z:  $[M]^{2+}$  calcd. for  $[C_{34}H_{22}N_8Ru]^{2+}$ , 322.05; found, 322.0;  $[M+PF_6]^+$  calcd. for  $[C_{34}H_{22}F_6N_8PRu]^+$ , 789.07; found, 789.1.

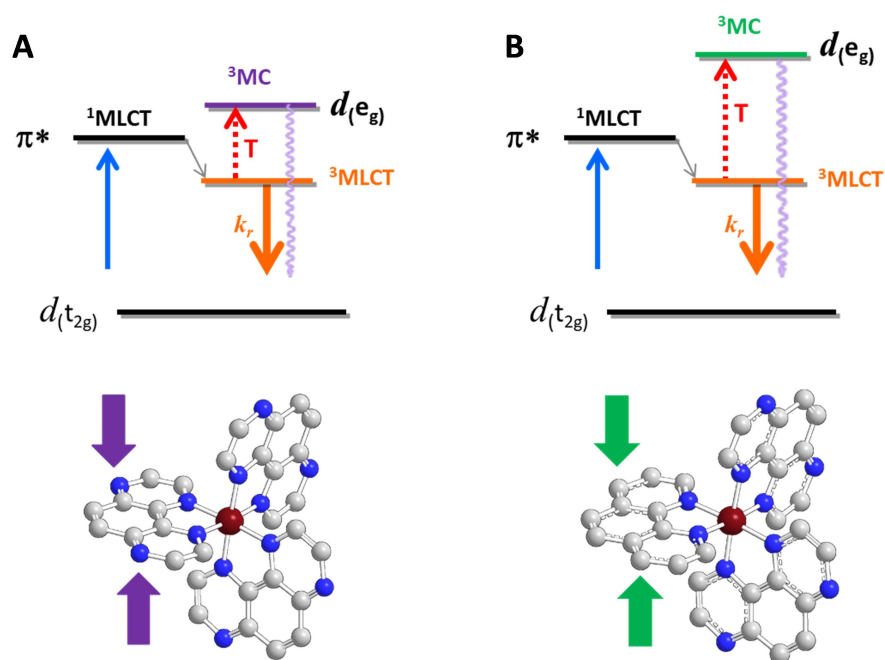
## 2.5.4. Figures



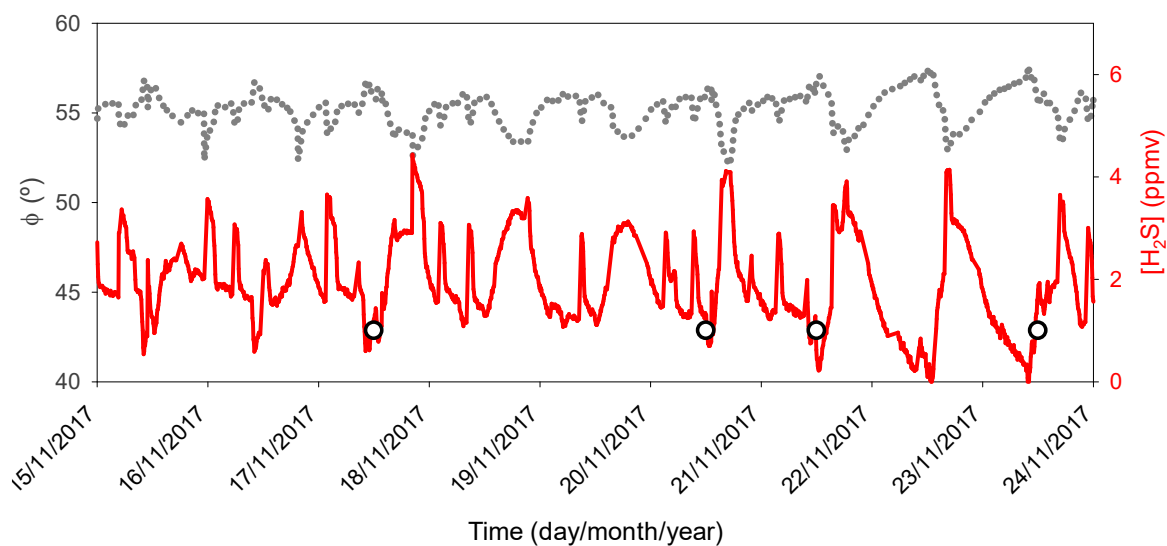
**Figure S12.** Stern-Volmer plots of  $\tau_0/\tau$  vs.  $[\text{HS}^-]$  obtained for the different  $\text{H}_2\text{S}$  indicator dyes dissolved in phosphate buffer (0.05 M, pH 10.0), at  $(25.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ .



**Figure S13.** (A) Luminescence spectrum ( $\lambda_{\text{exc}} = 463$  nm; under air) of the RP2T indicator dye immobilized on alkali-treated silica microspheres. (B) Luminescence decay of RP2T supported on alkali-treated silica microspheres; the dashed line represents the best fit of the experimental data ( $\chi^2 < 1.20$ ; single-photon timing) to a tri-exponential decay function (1024 channels;  $I(t) = I_0 + \sum_i A_i e^{-t/\tau_i}$ ), and the corresponding weighted residuals plot. The measured luminescence lifetimes, 90 ns, 430 ns and 1.7  $\mu$ s, correspond to a distribution of three luminophore populations due to the presence of multiple microdomains around the photoexcited Ru(II) molecules. Both the steady-state and time-resolved measurements were performed on an Edinburgh Instruments FLS980-Xd2-T Photoluminescence TC-SPC Spectrometer. Excitation was performed with a 463-nm <1-ns blue laser diode through a 465-nm band-pass interference filter; emission was monitored at 700 nm, through a 500-nm blazed double monochromator, with a Hamamatsu R928P photomultiplier tube cooled at  $-21$  °C.



**Figure S14.** Simplified excited state deactivation scheme for a Ru(II) complex with polyazaheterocyclic ligands. The picture depicts only the emitting  $^3\text{MLCT}$  and the non-emissive  $^3\text{MC}$  excited states for A) RT3; B) RPT2. The larger ligand field strength imparted by the phen ligand raises the overall  $^3\text{MC}$  energy.



**Figure S15.** Representative continuous real-time in situ monitoring of the  $\text{H}_2\text{S}$  concentration (red line) with the developed luminescent sensor, and emission phase shift (gray dotted line) in the biomethane stream of a quality control booth after biogas upgrading. The circles show  $\text{H}_2\text{S}$  point measurements made with an Agilent MicroGC 490 in situ gas chromatograph installed at line in the monitoring booth.

### 2.5.5. Additional tables

**Table S2.** Certified concentration of the analyte gases in the commercial binary mixtures with N<sub>2</sub>.

	Nominal value (ppmv)	Actual value (ppmv)	<i>U</i> (%) <sup>a</sup>
O <sub>2</sub>	100.0	100.5	± 3
O <sub>2</sub>	150.0	153.2	± 3
NH <sub>3</sub>	50.0	50.5	± 3
H <sub>2</sub> S	50.0	50.5	± 3
CH <sub>3</sub> SH	100.0	100.2	± 5

<sup>a</sup> Uncertainty of the actual value using a coverage factor of 2, which provides a confidence level of ca. 95%.

**Table S3.** Luminescence lifetime and H<sub>2</sub>S sensitivity of the sensor material (RPT2/SiO<sub>2</sub> microspheres) employing different bases in the indicator dye immobilization procedure.

Base	$\tau_{\text{op}}$ (μs) <sup>a</sup>	$\Delta\phi$ (°) <sup>b</sup>
Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1.17 ± 0.04	2.6 ± 0.5
NaCO <sub>3</sub>	0.81 ± 0.02	3.0 ± 0.7
DABCO	0.61 ± 0.01	0.46 ± 0.05
Et <sub>3</sub> N	1.15 ± 0.02	0.3 ± 0.1
EtNH <sub>2</sub>	1.05 ± 0.05	< 0.2
KButO	0.85 ± 0.03	0.7 ± 0.2
LiOH	1.14 ± 0.01	2.2 ± 0.8
NaOH	1.17 ± 0.04	2.6 ± 0.4
KOH	1.17 ± 0.04	2.6 ± 0.8
CsOH	1.28 ± 0.01	3.2 ± 0.7
Ca(OH) <sub>2</sub>	1.09 ± 0.02	1.0 ± 0.4
Ba(OH) <sub>2</sub>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Operational emission lifetime ( $\tau_{\text{op}}$ ) of the immobilized dyes, calculated from the luminescence phase shift ( $\phi$ ) by the trigonometric function:  $\tau_{\text{op}} = (2\pi f)^{-1} \tan \phi$ , where  $f$  is the modulation frequency of the excitation LED source ( $n = 4$ ); <sup>b</sup> Luminescence phase shift excursion for 0–10 ppmv H<sub>2</sub>S in N<sub>2</sub> ( $n = 4$ ). <sup>c</sup> See text.

## Acknowledgments

This work has been funded by Naturgy Energy Group (formerly Gas Natural Fenosa Engineering, Madrid, Spain) within the Smart Green Gas project granted in part by the CDTI “CIEN” program (ref. IDI-20141349), cofinanced by the European Regional Development Fund. The collaboration of Inés Conde, Piedad Martinez, Carmen Guinea and John Chamberlain from NEG, and of Raul Cano and Pilar Icaran of FCC Aqualia (Madrid, Spain) for the field testing of the sensors is greatly acknowledged.

## References

- [1] Pouliquen, F.; Blanc, C.; Arretz, E.; Labai, I.; Tournier-Lasserre, J.; Ladousse, A.; Nougayrede, J.; Savin, G.; Ivaldi, R.; Nicolas, M.; Fialaire, J.; Millischer, R.; Azema, C.; Espagno, L.; Hemmer, H.; Perrot, J. Hydrogen sulfide. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* **2012**, 18, 429–450.
- [2] Guidotti, T.L. Hydrogen sulfide: advances in understanding human toxicity. *Int. J. Toxicol.* **2010**, 29, 569–581.
- [3] *Natural gas and biomethane for use in transport and biomethane for injection in the natural gas network - Part 1: specifications for biomethane for injection in the natural gas network*; EN 16723-1; European Organization for Standardization, 2016.
- [4] Zamorska-Wojdyla, D.; Gaj, K.; Holtra, A.; Sitarska, M. Quality evaluation of biogas and selected methods of its analysis. *Ecol. Chem. Eng. S.* **2012**, 19, 77–87.
- [5] Pandey, S.K.; Kim, K.H.; Tang, K.T. A review of sensor-based methods for monitoring hydrogen sulfide. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2012**, 32, 87–99.
- [6] Pandey, S.K.; Kim, K.H. A review of methods for the determination of reduced sulfur compounds (RSCs) in air. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, 43, 3020–3029.
- [7] Dong, J.Z.; DeBusk, S.M. GC-MS analysis of hydrogen sulfide, carbonyl sulfide, methanethiol, carbon disulfide, methyl thiocyanate, and methyl disulfide in mainstream vapor phase cigarette smoke. *Chromatographia* **2010**, 71, 259–265.
- [8] Narayanaswamy, R.; Sevilla, F. Flow cell studies with immobilized reagents for the development of an optical fibre sulphide sensor. *Analyst* **1986**, 111, 1085–1088.
- [9] Mei, L.; Chen, Y.; Ma, J. Gas sensing of SnO<sub>2</sub> nanocrystals revisited: developing ultra-sensitive sensors for detecting the H<sub>2</sub>S leakage of biogas. *Sci. Rep.* **2014**, 4, 6028–6036.
- [10] Mori, M.; Itagaki, Y.; Sadaoka, Y.; Nakagawa, S.; Kida, M.; Kojima, T. Detection of offensive odorant in air with a planar-type potentiometric gas sensor based on YSZ with Au and Pt electrodes. *Sens. Actuators B: Chem.* **2014**, 191, 351–355.
- [11] Petrucci, J.F.S.; Wilk, A.; Cardoso, A.A.; Mizaikoff, B. Online analysis of H<sub>2</sub>S and SO<sub>2</sub> via advanced mid-infrared gas sensors. *Anal. Chem.* **2015**, 87, 9605–9611.
- [12] McDonagh, C.; Burke, C.S.; MacCraith, B.D. Optical chemical sensors. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 400–422.
- [13] Orellana, G. In *Optical chemical sensors*; Baldini, F.; Chester, A.N.; Homola, J.; Martellucci, S., Ed.; Springer-Kluwer: Amsterdam, 2006; pp 99–116.
- [14] Wolfbeis, O.S. Probes, sensors, and labels: why is real progress slow? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 9864–9865.



- [15] Axelrod, H.D.; Cary, J.H.; Bonelli, J.E.; Lodge, J.P. Fluorescence determination of sub-parts per billion hydrogen sulfide in the atmosphere. *Anal. Chem.* **1969**, *41*, 1856–1858.
- [16] Choi, M.M.F. Fluorimetric optode membrane for sulfide detection. *Analyst* **1998**, *123*, 1631–1634.
- [17] Petrucci, J.; Cardoso, A.A. Portable and disposable paper-based fluorescent sensor for in situ gaseous hydrogen sulfide determination in near real-time. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 11714–11719.
- [18] Shahriari, M.R.; Ding, J. Active silica-gel films for hydrogen sulfide optical sensor application. *Optics Letters* **1994**, *19*, 1085–1087.
- [19] Kohls, O.; Klimant, I.; Holstand, G.; Köhl, K. Thionine as an indicator for use as a hydrogen sulfide optode. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng* **1996**, *2836*, 311–321.
- [20] Lippert, A.R.J. Designing reaction-based fluorescent probes for selective hydrogen sulfide detection. *Inorg. Biochem.* **2014**, *133*, 136–142.
- [21] Staudinger, C.; Borisov, S.M. Long-wavelength analyte-sensitive luminescent probes and optical (bio)sensors. *Methods Appl. Fluoresc.* **2015**, *3*, 042055.
- [22] da Silveira Petrucci, J.F.; Cardoso, A.A. Sensitive luminescent paper-based sensor for the determination of gaseous hydrogen sulfide. *Anal. Methods* **2015**, *7*, 2687–2692.
- [23] Ma, F.; Sun, M.; Zhang, K.; Yu, H.; Wang, Z.; Wang, S. A turn-on fluorescent probe for selective and sensitive detection of hydrogen sulfide. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *879*, 104–110.
- [24] Zhang, Y.; Zhao, M.; Chao, D. A Cyclometalated iridium(III) complex for selective luminescent detection of hydrogen sulfide. *Sens. Actuators B: Chem.* **2017**, *248*, 19–23.
- [25] Ye, Z.; An, X.; Song, B.; Zhang, W.; Dai, Z.; Yuan, J. A novel dinuclear ruthenium(II)-copper(II) complex-based luminescent probe for hydrogen sulfide. *Dalton Trans* **2014**, *43*, 13055–13060.
- [26] Song, R.; Hou, L.; Wang, Y.; Li, Y.; Wang, X.; Zang, Y.; Zang, Y.; Wang, X.; Yan, S. Fluorescence Zn-based metal-organic frameworks for the detection of hydrogen sulfide in natural gas. *Anal. Methods* **2017**, *9*, 3914–3919.
- [27] Zhang, X.; Hu, Q.; Xia, T.; Zhang, J.; Yang, Yu.; Cui, Y.; Chen, B.; Qian, G. Turn-on and ratiometric luminescent sensing of hydrogen sulfide based on metal-organic frameworks. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 32259–32265.
- [28] See, for instance, Valeur, B.; Berberan-Santos, M.N. *Molecular fluorescence*, 2nd ed.; VCH-Wiley: Weinheim, 2012.
- [29] Wang, X.D.; Wolfbeis, O.S. Optical methods for sensing and imaging oxygen: materials, spectroscopies and applications. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 3666–3761.
- [30] Orellana, G.; Garcia-Fresnadillo, D. In *Optical Sensors*; Narayanaswamy, R., Wolfbeis, O.S., Ed.; Springer Ser Chem Sens Biosens: Berlin, 2004; pp 309–357.

- [31] Urriza-Arsuaga, I.; Bedoya, M.; Orellana, G. Luminescent sensor for O<sub>2</sub> detection in biomethane streams. *Sens. Actuators B: Chem* **2019**, 279, 458–465.
- [32] Haga, M.; Dodsworth, E.S.; Eryavec, G.; Seymour, P.; Lever, A.B.P. Luminescence quenching of the tris(2,2'-bipyrazine)ruthenium(II) cation and its monoprotonated complex. *Inorg. Chem.* **1985**, 24, 1901–1906.
- [33] Masschelein, A.; Jacquet, L.; Kirsch-De Mesmaeker, A.; Nasielski, J. Ruthenium complexes with 1,4,5,8-tetraazaphenanthrene. Unusual photophysical behavior of the tris-homoleptic compound. *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 855–860.
- [34] Yeh, A.T.; Shank, C.V.; McCusker, J.K. Ultrafast electron localization dynamics following photo-induced charge transfer. *Science* **2000**, 289, 935–938.
- [35] Mattiuzzi, A.; Jabin, I.; Moucheron, C.; Kirsch-De-Mesmaeker, A. Ru-TAP complexes with BTZ and PYTZ ligands: novel candidates as photooxidizing agents. *Dalton Trans.* **2011**, 40, 7395–7402.
- [36] Troian-Gautier, L.; Marcelis, L.; De Winter, J.; Gerbaux, P.; Moucheron, C. Two ruthenium complexes capable of storing multiple electrons on a single ligand-Photophysical, photochemical and electrochemical properties of [Ru(phen)<sub>2</sub>(TAPHAT)]<sup>2+</sup> and [Ru(phen)<sub>2</sub>(TAPHAT)Ru(phen)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>. *Dalton Trans.* **2017**, 46, 15287–15300.
- [37] Kirsch-De Mesmaeker, A.; Nasielski-Hinkens, R.; Maetens D.; Pauwels, D.; Nasielski, J. Synthesis and spectroscopic and electrochemical properties of a new ruthenium complex: the tris(1,4,5,8-tetraazaphenanthrene)ruthenium(II) dication. *Inorg. Chem.* **1984**, 23, 377–379.
- [38] Hoffman, M.Z.; Bolletta, F.; Moggi, L.; Hug, G.L. Rate constants for the quenching of excited states of metal complexes in fluid solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1989**, 18, 219–543.
- [39] Balzani, V. Electron transfer in chemistry, 1<sup>st</sup> ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2001.
- [40] Armstrong, D.A.; Huie, R.E.; Lyman, S.; Koppenol, W.H.; Merényi, G.; Neta, P.; Stanbury, D.M.; Steenken, S.; Wardman, P. Standard electrode potentials involving radicals in aqueous solution: inorganic radicals. *BioInorg. React. Mechanism.* **2013**, 9, 59–61.
- [41] Orellana, G.; Moreno-Bondi, M.C.; Garcia-Fresnadillo, D.; Marazuela, M.D. In *Frontiers in chemical sensors*; Orellana, G., Moreno-Bondi, M. C., Ed.; Springer Ser Chem Sens Biosens: Berlin, 2005; pp 189–225.
- [42] Shahzad, N.; Hussain, A.; Mustafa, N.; Ali, N.; Kanoun, M.B.; Goumri-Said, S. First principles study of the adsorption and dissociation mechanisms of H<sub>2</sub>S on a TiO<sub>2</sub> anatase (001) surface. *RSC Adv.* **2016**, 6, 7941–7949.
- [43] Furlong, D.N. Adsorption of tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) cations at silica/aqueous solution interfaces. *Aust. J. Chem.* **1982**, 35, 911–917.

- [44] Yan, R.; Chin, T.; Ng, Y.L.; Duan, H.; Liang, D.T.; Tay, J.H. Influence of surface properties on the mechanism of H<sub>2</sub>S removal by alkaline activated carbons. *Env. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 316–323.
- [45] Tadros, T. F.; Lyklema, J. The Electrical Double Layer on Silica in the Presence of Bivalent Counter-Ions. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1969**, *22*, 1–7.
- [46] Shirsat, M. D.; Bangar, M. A.; Deshusses, M. A.; Myung, N. V.; Mulchandani, A. Polyaniline Nanowires-Gold Nanoparticles Hybrid Network Based Chemiresistive Hydrogen Sulfide Sensor. *Appl. Phys. Lett.* **2009**, *94*, 083502.
- [47] Song, Z.; Wei, Z.; Wang, B.; Luo, Z.; Xu, S.; Zhang, W.; Yu, H.; Li, M.; Huang, Z.; Zang, J.; Yi, F.; Liu, H. Sensitive Room-Temperature H<sub>2</sub>S Gas Sensors Employing SnO<sub>2</sub> Quantum Wire/Reduced Graphene Oxide Nanocomposites. *Chem. Mat.* **2016**, *28*, 1205–1212.
- [48] Hao, X.; Ma, C.; Yang, X.; Liu, T.; Wang, B.; Liu, F.; Liang, X.; Yang, C.; Zhu, H.; Lu, G.; YSZ-Based Mixed Potential H<sub>2</sub>S Sensor Using La<sub>2</sub>NiO<sub>4</sub> Sensing Electrode. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, *255*, 3033–3039.
- [49] Wang, Y.; Yan, H.; Wang, E. Solid Polymer Electrolyte-Based Hydrogen Sulfide Sensor. *Sens. Actuators B: Chem.* **2002**, *87*, 115–121.
- [50] Brown, M. D.; Hall, J. R.; Schoenfisch, M. H.; A Direct and Selective Electrochemical Hydrogen Sulfide Sensor. *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1045*, 67–76.
- [51] Liu, X.; Wang, W.; Zhang, Y.; Pan, Y.; Liang, Y.; Li, J. Enhanced Sensitivity of a Hydrogen Sulfide Sensor Based on Surface Acoustic Waves at Room Temperature. *Sensors* **2018**, *18*, 3796.
- [52] Qin, X.; Feng, W.; Yang, X.; Wei, J.; Huang, G. Molybdenum Sulfide/Citric Acid Composite Membrane-Coated Long Period Fiber Grating Sensor for Measuring Trace Hydrogen Sulfide Gas. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, *272*, 60–68.
- [53] Yu, C.; Li, X.; Zeng, F.; Zheng, F.; Wu, S. Carbon-Dot-Based Ratiometric Fluorescent Sensor for Detecting Hydrogen Sulfide in Aqueous Media and Inside Live Cells. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 403–405.
- [54] Zhou, T.; Wang, N.; Li, C.; Yuan, H.; Xiao, D. Sulfide Sensor Based On Room-Temperature Phosphorescence of PbO/SiO<sub>2</sub> Nanocomposite. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 1705–1711.
- [55] Wang, N.; Zhou, T.; Wang, J.; Yuan, H.; Xiao, D. Sulfide Sensor Based on the Room-Temperature Phosphorescence of ZnO/SiO<sub>2</sub> Nanocomposite. *Analyst* **2010**, *135*(9), 2386–2393.
- [56] Orellana, G.; Alvarez-Ibarra, C.; Quiroga, M.C. New Binuclear Heterocyclic Ligands Sharing an  $\alpha$ -Diimine Moiety and Their Ruthenium(II) Tris-chelates. *Bull. Soc. Chim. Belge* **1988**, *97*, 731–742.
- [57] Crutchley, R. J.; Lever, A. B. P. Ruthenium(II) Tris(bipyrazyl) Dication-A New Photocatalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7128–7129.

- [58] Sullivan, B. P.; Salman, D. J.; Meyer, T. J. Mixed Phosphine 2,2'-Bipyridine Complexes of Ruthenium. *Inorg. Chem.* **1978**, *17*, 3334–3341.

Unprecedented reversible real-time luminescent sensing of H<sub>2</sub>S in the gas phase.

### 3. Tailored luminescent sensing of NH<sub>3</sub> in biomethane productions

Sensors & Actuators: B. Chemical 292 (2019) 210–216



Contents lists available at ScienceDirect

Sensors and Actuators B: Chemical

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/snb](http://www.elsevier.com/locate/snb)



#### Tailored luminescent sensing of NH<sub>3</sub> in biomethane productions

Idoia Urriza-Arsuaga, Maximino Bedoya\*, Guillermo Orellana\*

*Optical Chemosensors & Applied Photochemistry Group (GSOLFA), Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040, Madrid, Spain*



Adapted with permission from:

Sensors and Actuators B: Chemical 2019, 292, 210–216

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.04.109>

Copyright © 2019 Elsevier

#### Abstract

Ammonia monitoring in the gas phase is essential in those activities (e.g. fertilizers, biogas and biomethane production; landfills of waste; intensive livestock farming; industrial refrigeration systems; automotive sector) where the high concentration of this gas can pose a risk to the human health and the environment. Each of the current sensing technologies (semiconducting metal oxide, catalytic, conducting gas polymer and optical sensors) has their own issues (lack of sensitivity, selectivity or stability; long response/recovery times and cost or maintenance burden). Herein, we report a detailed design, fabrication, analytical characterization and application of a luminescent NH<sub>3</sub> sensor based on an imidazole-containing Ru(II) polypyridyl complex immobilized on silica microspheres. The sensing mechanism is based on the proton transfer reaction from the dye to the analyte, which causes the (reversible) dye luminescence intensity and lifetime quenching. The latter is monitored by luminescence phase shift measurements of the sensing layer with a dedicated fiberoptic luminometer based on the same technology used for O<sub>2</sub> monitoring. The luminescent NH<sub>3</sub> sensor shows a minimum 0.5–20 ppmv measuring range, a LOD of 0.15 ppmv, and relatively short response and recovery times (4 and 13 min, respectively). The luminescent NH<sub>3</sub> sensor was tested for 4 months in a biomethane production plant with outstanding performance.

**Keywords:** Ru(II) polypyridyls, ammonia, gas sensor, luminescence, phase-sensitive detection, biomethane.

### 3.1. Introduction

Ammonia is a noxious gas with a characteristic pungent odor that, at high concentrations, can have devastating effects on living beings and the environment. This toxic chemical damages human lungs and liver, causes eye and skin irritation and is lethal at high levels and long-term exposures.<sup>1</sup> For these reasons, the maximum occupational 8-h exposure limit for ammonia was set to 20 ppmv and 25 ppmv by the European Agency for Safety and Health at Work (EU-OSHA) and by the US Occupational Safety and Health Administration (US-OSHA), respectively.

Therefore, the need for continuous, reliable, real-time ammonia monitoring in those activities where the ammonia concentration is critical and can pose a risk to both people and the environment (pesticides, fertilizers and biomethane production; paper mills; intensive livestock farming; industrial refrigeration systems; automotive sector and medical applications) is unquestionable.<sup>2</sup> In fact, monitoring of ammonia is getting even more critical since public organisms are implementing new and stricter regulations in the various fields. Such is the case, for instance, of the current European Norm EN16723-1 for biomethane,<sup>3</sup> which details the quality specifications that this gas must fulfill to be injected in the natural gas grids ( $\leq 10 \text{ mg m}^{-3}$ , equivalent to 13 ppmv, for NH<sub>3</sub> impurity), so that both the energetic quality and the end users' safety are guaranteed.

Several analytical techniques for NH<sub>3</sub> quantification in the gas phase have been described in the literature.<sup>2</sup> Semiconducting metal oxide sensors<sup>4-6</sup> and catalytic ammonia sensors<sup>7-8</sup> show good sensitivity to NH<sub>3</sub> and short response times. However, these devices are scarcely selective and require operation at high temperatures. Conducting gas polymer detectors<sup>9-11</sup> are sensitive enough, but they suffer from significant instability and irreversibility, demanding a regeneration step after each determination.<sup>10</sup>

Optical gas sensors have gained momentum due to their superior sensitivity and good selectivity. State-of-the-art optical sensors for NH<sub>3</sub> include those based on tunable-diode laser absorption spectroscopy (TDLAS);<sup>12</sup> because they are costly and bulky, they have seldom been applied to field measurements. A large number of optical gas sensing devices described so far are based on pH indicator dyes, in which the acid-base reaction between the dye and the ammonia yields a measurable change in the absorption of light, luminescence intensity or luminescence lifetime (the term "luminescence" encompasses both fluorescence and

phosphorescence phenomena). A variety of alkali-sensitive indicator dyes have been used in absorption-based gas sensors such as bromophenol blue,<sup>13-14</sup> bromocresol purple<sup>15-17</sup> and bromocresol green,<sup>18</sup> to name a few. Alternatively, quantification of waterborne NH<sub>3</sub> has employed fluorescent sensors based on the emission intensity change of a pH indicator dye<sup>19-20</sup> or based on Förster resonance energy transfer (FRET) to alkali-sensitive indicator dyes (e.g. bromocresol green,<sup>21</sup> fluorescein<sup>22-23</sup> or sodium rhodizonate<sup>24</sup>). These sensor systems lack reagent consumption, are rapid and do not require pre-treatment steps or time-consuming maintenance. However, the (photo)stability of these organic dyes is not sufficient for continuous long-term ammonia monitoring, leading to significant signal drift even for those sensors based on emission lifetime measurements modulated by FRET. In some cases the sensing layer stability was improved but at the expense of a longer response and recovery times (8–143 min). Recently, dosimeters based on luminescent Eu(III) complexes have also been described for their potential application to NH<sub>3</sub> determination.<sup>25-26</sup> Unfortunately, the latter must involve a regeneration step. Additionally, optical sensors using upconverting luminescent nanoparticles<sup>27</sup> or highly photostable fluorescent aza-BODIPY dyes have been applied to waterborne ammonia detection.<sup>28-29</sup> Moreover, ammonia sensors based on fluorescent ion-selective chromophores instead of commonly used pH indicators have also been described as a potential way to avoid the interference of substituted amines.<sup>30</sup> Only direct luminescence lifetime monitoring guarantees the analytical robustness associated to these measurements provided the degradation products do not absorb and emit in the same region than the indicator dye. A summary of the state-of-the-art in NH<sub>3</sub> optical sensing devices is shown on Table S1.

In this contribution, we report the development of a highly sensitive luminescence lifetime-based ammonia gas sensor based on the alkali-sensitive indicator dye disodium {bis[(1,10-phenanthroline-4,7-diyl)bis(benzenesulfonate)](2-(2'-pyridyl)imidazole)}ruthenium(II) (Na<sub>2</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>(pyim)]), immobilized on silica gel microspheres. The luminescence phase shift of the novel sensor material is detected with a custom-made portable instrument tailored to in-situ, real-time, continuous industrial and environmental sensing. This method uses a sinusoidally modulated excitation light and measures the phase shift of the (sinusoidally) modulated emission with respect to the excitation phase.<sup>31</sup> Phase shift rather than intensity determinations remove the drift due to the excitation light source or detector aging, luminescent indicator dye bleaching and leaching, and fiber-optic bending. Phase shift detection is readily implemented nowadays thanks to the performance of the LED sources (that can be modulated up to 20 MHz) and to the power and small size of microcontrollers and field-programmable gate arrays. A detailed analytical characterization and interferences study, as well as its maiden application to NH<sub>3</sub> monitoring in the effluent of an actual biomethane production plant, is also reported.



## 3.2. Materials and methods

### 3.2.1. Chemicals, supports and gases

Na<sub>2</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>(pyim)] was synthesized as described in the literature.<sup>32</sup> Bathophenanthroline disulfonic acid disodium salt hydrate (98%) was from Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany). Ru(III) chloride hydrate (99%) and ammonium hexafluorophosphate were from Fluorochem (Derbyshire, UK). LH-20 Sephadex and 2-(2'-pyridyl)imidazole were from Sigma Aldrich Química (Madrid, Spain). Lithium chloride (99%), *N,N*-dimethylformamide (99.8%, over molecular sieves), phosphoric acid (85% wt. solution in water) and acetonitrile (HPLC grade) were from Acros Organics (Geel, Belgium). Methanol, ethanol, acetone and ethyl acetate (all HPLC grade) were from VWR Eurolab (Barcelona, Spain). Sodium hydroxide (p.a.), 1-propanol (98%) and hydrochloric acid (36.5–38%) were from Scharlau Chemie (Sentmenat, Spain). Purified water was obtained from a Direct-Q 3 UV purification system (Merck Millipore, Bedford, MA). Benzenesulfonic acid-functionalized (non-endcapped) silica (Isolute SCX; 50 µm average particle size, 6 nm pore size, 0.6 meq g<sup>-1</sup> exchange capacity), and quaternary amine-functionalized (non-endcapped) silica (Isolute SAX; 50 µm average particle size, 6 nm pore size, 0.6 meq g<sup>-1</sup> exchange capacity) were from Biotage (Uppsala, Sweden); hydrophilic fumed silica (S5130) (7 nm particle size) was from Sigma Aldrich, and silica gel microspheres SiliaSphere™ PC (40–75 µm diameter, 30 nm pore size) were from SiliCycle (Quebec, Canada).

Nitrogen (99.9999%) and methane (99.9995%) were from cylinders provided by Contse (San Sebastián de los Reyes, Spain); both gases were further passed through an Agilent OT3-2-SS oxygen/water trap (Santa Clara, CA) to reach the desired purity (< 15 ppbv O<sub>2</sub> and < 25 ppbv moisture). Air from cylinders (99.995%) was from Praxair (Madrid, Spain). Certified binary mixtures of O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S or CH<sub>3</sub>SH in N<sub>2</sub> (Contse) had the concentrations specified in Table 1.

**Table 1.** Certified concentration of the analyte gas in its binary mixture with N<sub>2</sub> (*U* is the uncertainty using a coverage factor of 2, which provides a confidence level of ca. 95%).

	Nominal value (ppmv)	Actual value (ppmv)	<i>U</i> (%) <sup>a</sup>
O <sub>2</sub>	150.0	153.2	± 3
NH <sub>3</sub>	20.0	20.0	± 3
H <sub>2</sub> S	50.0	50.5	± 3
CH <sub>3</sub> SH	100.0	100.2	± 5

### 3.2.2. Instrumentation

Emission lifetime-based measurements were performed with a ruggedized portable fiberoptic luminometer developed in our research group (OSA Optical Sensor System).<sup>33-34</sup> The latter is able to sequentially (typically every 5–60 s) measure up to 4 different parameters using phase-sensitive detection of the modulated luminescence coming from each dedicated sensitive tip (e.g. NH<sub>3</sub>, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S and temperature). The luminescence phase shift ( $\phi$ ) and its lifetime ( $\tau$ ) are related by the trigonometric function  $\tan\phi = 2\pi f\tau$ , where  $f$  is the modulation frequency of the excitation source.<sup>31</sup> The NH<sub>3</sub>-sensitive luminescent layers were placed in a custom-made 4-channel stainless steel flow cell, over a 400-mesh nylon sieve (Filtro Vibración, Barcelona, Spain); the ensemble is covered with a plastic circular optical window (10 x 1 mm, LasIRvis, Cornwall, UK). Finally, an acrylonitrile-butadiene O-ring (7.0 x 1.5 mm) and a PVC adapter screw hold the sensitive layer into the measuring cell providing the required gas tightness.<sup>33</sup> All calibration gas mixtures were prepared with a dedicated gas mixing system (PID Eng&Tech, Alcobendas, Spain), consisting of 3 electronic mass-flow controllers (Bronkhorst F-211CV, Ruurlo, The Netherlands) with maximum flows of 20, 50 and 300 mL min<sup>-1</sup>, respectively, all handled by the manufacturer Process@ v.2.2.1.0 software. The working temperatures (5–35 °C) were set and kept within  $\pm 0.2$  °C by a custom-made thermostatic system based on a Peltier cell, a thermal insulator, a ventilated heatsink and a Pt-100 probe.

### 3.2.3. Sensing layer preparation

To a suspension of 10.0 mg of solid support in 1000  $\mu$ L of acetonitrile or in 200  $\mu$ L of aqueous HCl solution of the tested concentration, the desired volume ( $\mu$ L) of the Na<sub>2</sub>[Ru(pbbbs)<sub>2</sub>(pyim)] indicator dye stock solution ( $3.5 \times 10^{-4}$  M) in water was added under magnetic stirring. After additional 10 min without stirring, the acetonitrile solvent was evaporated under reduced pressure. In the case of the aqueous HCl, the suspension was dried in an oven at 110 °C for at least 24 h.

### 3.2.4. Calibration and analytical characterization

The response of the ammonia sensing layers was evaluated in the 0–20 ppmv (equivalent to 0–15.2 mg m<sup>-3</sup>), at atmospheric pressure and controlled temperature (5–35 °C), using the instrumentation described above. The first calibration plot is always used to stabilize the sensing layer and not considered to evaluate the analytical performance of the device. The potential O<sub>2</sub> interference was studied in the 0–400 ppmv range, as well as the sensor response to methyl mercaptan (0–20.0 ppmv) and hydrogen sulfide (0–10.1 ppmv).

### 3.2.5. Calibration and analytical characterization

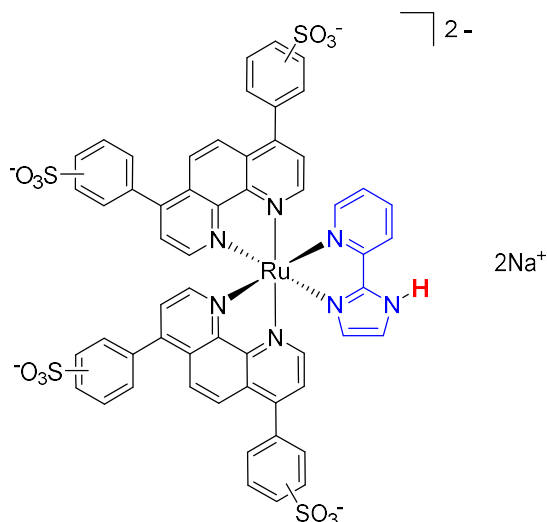
The developed ammonia sensor was installed in an actual biomethane production plant located in Jerez de la Frontera (Spain), where biomethane is generated from the anaerobic fermentation of a wastewater treatment plant (WWTP) sewage sludge. The effluent gas is compressed and stored at 250 bar in gas cylinders for its use as vehicle fuel. The biomethane sampling line is placed just after the gas compression process and before the storage system; a pressure reducer to 2 bar is installed at the sampling inlet. The biomethane sampling line consists of a 1/4" stainless steel tube directly connected to a flow and pressure control system located just before the flow measuring cell where the sensing layers are placed. This sampling line configuration enables continuous NH<sub>3</sub> monitoring in the gas stream coming from either the production plant (operating 9:00–17:00 h during working days) or the biomethane gas storage cylinders (when the production is halted). All measurements were carried out at atmospheric pressure with a 100 mL min<sup>-1</sup> gas flow, and with temperature monitoring using a LM335Z sensor (–40 to 100 °C) to automatically correct the sensor response for the instant temperature value.

## 3.3. Results and discussion

### 3.3.1. Indicator dye selection

In view of the widespread analytical applications of luminescent Ru(II) polypyridyl complexes for O<sub>2</sub> sensing,<sup>35</sup> and given the outstanding versatility of tailoring those coordination compounds,<sup>36</sup> we opted for a Ru(II) complex containing an acidic heterocyclic ligand as the indicator dye for the ammonia gas sensor development. In this way, the sensor performance will rely on the luminescence intensity and lifetime quenching of the Ru(II) complex provoked by the basic analyte through a proton transfer process.

Many Ru(II) complexes with ligand(s) bearing proton-donating or -accepting groups such as the hydroxy, carboxy or amino, or including non-coordinated heterocyclic protonatable/deprotonatable N-atoms, have been described in the literature as pH-sensitive dyes.<sup>32</sup> In this work, we have used the [Ru(pbbs)<sub>2</sub>(pyim)]<sup>2-</sup> anion (Figure 1), containing the acidic 2-(2'-pyridyl)imidazole (pyim) ligand, for manufacturing the NH<sub>3</sub>-sensitive layer as it displays a good compromise between sensitivity and reversibility (see below).



**Figure 1.** Chemical structure of the luminescent  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2(\text{pyim})]$  indicator dye for  $\text{NH}_3$  sensing.

The spectroscopic and photochemical properties of the Ru(II) indicator dye were investigated in pH 2–11 aqueous solutions by Tormo et al.<sup>32</sup> Like other members of the family, the electronic absorption spectra of  $[\text{Ru}(\text{pbbs})_2(\text{pyim})]^{2-}$  shows two main bands, one corresponding to a strongly allowed  $\pi\text{-}\pi^*$  pbbs-centered transition (277 nm) and the other to a visible  $d\text{-}\pi^*$  metal-to-ligand charge transfer (MLCT) transition. Its luminescence spectrum exhibits the characteristic red band resulting from the deactivation of the  $^3\text{MLCT}$  state. As pH is increased from 2 to 10, a bathochromic shift is observed in the MLCT absorption (451 to 459 nm) and emission (644 to 673 nm) bands, while the luminescence intensity (20-fold) and lifetime (600 to 166 ns) quenching occurs. Furthermore, both the ground state and the excited state acidity constants were also determined ( $\text{p}K_{\text{a}} = 6.9$  and  $\text{p}K_{\text{a}}^* = 5.5$  in 10-mM phosphate buffer).

### 3.3.2. Sensitive layer optimization

#### 3.3.2.1. Effect of the solid support

In addition to an adequate choice of the indicator dye for the development of any luminescent sensor, it is also essential to select a suitable solid support of the dye, as the properties of the former will strongly influence the sensor performance. A good polymer support, either organic or inorganic, should confer high sensitivity and selectivity to the optical sensor plus a wide dynamic range, short response and recovery times, and high (photo)stability.

In this way, several siliceous supports were tested to capitalize on the significant gas-adsorbing properties of these materials.<sup>37</sup> The latter may enhance the sensor sensitivity by promoting encounters between the dye and the analyte on a surface rather than having to

explore a 3-D space. The [Ru(pbbs)<sub>2</sub>(pyim)]<sup>2-</sup> indicator dye was adsorbed onto four solid supports, with different particle sizes and functional surface groups, namely pyrogenic silica (S5130), porous silica microspheres, anionic SCX and cationic SAX silica particles (see their full description in the Material and methods section). The performance of the respective sensing layers (Table 2) was evaluated in terms of sensitivity (difference between the luminescence phase shift in the absence of analyte and in the presence of 16 ppmv NH<sub>3</sub> in methane,  $\Delta\phi_{0-16} = \phi_0 - \phi_{16}$ ), response and recovery times ( $t_{90}$  and  $t_{-90}$ , respectively).

**Table 2.** Luminescence phase shift, sensitivity, response and recovery times of the NH<sub>3</sub> sensing layers, where the Ru(II) indicator dye is adsorbed on each solid support from an acetonitrile solution.

Support <sup>a</sup>	$\phi_0$ (°) <sup>b</sup>	$\Delta\phi_{0-16}$ (°) <sup>c</sup>	$t_{90}$ (min) <sup>d</sup>	$t_{-90}$ (min) <sup>e</sup>
S5130	30.6 ± 0.1	4.5 ± 0.5	≤ 90	≤ 370
Silica μ-spheres	17.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	≤ 60	≤ 260
SCX	33.8 ± 0.4	1.5 ± 0.2	≤ 60	≤ 200
SAX	28.8 ± 0.7	1.2 ± 0.1	≤ 90	≤ 300

<sup>a</sup> See Experimental section for a full description of the supports. <sup>b</sup> Phase shift in the absence of analyte. <sup>c</sup> Phase shift excursion measured from 0 to 16 ppmv NH<sub>3</sub> in CH<sub>4</sub>. <sup>d</sup> Response time for a 8 to 16 ppmv NH<sub>3</sub> step variation (90% signal change); relative uncertainty 10% ( $n = 3$ ). <sup>e</sup> Recovery time for a 16 to 0 ppmv NH<sub>3</sub> step variation (90% signal change); relative uncertainty 10% ( $n = 3$ ). All measurements were carried out at (25.0 ± 0.2) °C, 50 mL min<sup>-1</sup> flow and 78 kHz modulation frequency. Confidence intervals  $\pm t_{n-1} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level;  $n = 3$ ).

The dyed S5130 hydrophilic silica displayed the highest sensitivity of all the prepared luminescent sensing layers, being able to detect as little as 71 ppbv of NH<sub>3</sub>. However, none of the sensing layers tested was suitable for real-time ammonia sensing due to their exceedingly long response (> 60 min) and recovery (> 200 min) times. The slow sensor response is due to the strong chemisorption of ammonia on the silica. As described in the literature,<sup>38</sup> while siloxane bridges are the preferred sites for ammonia chemisorption, silica surface hydroxyl groups are more likely to physisorb NH<sub>3</sub>. Therefore, with the aim of preventing ammonia chemisorption and promoting physical adsorption of ammonia ( $\equiv\text{Si}-\text{OH}\cdots\text{NH}_3$ ), the siliceous supports were pre-treated with an aqueous strong acid (HCl), leading to the formation of surface silanol groups ( $\equiv\text{SiOH}$ ,  $\text{p}K_a = 4.5$ ) at the expense of the siloxane bridges.

The results depicted in Table 3 reveal that the acid treatment was most effective with the silica microspheres, the response and recovery times of which were dramatically reduced to 10 and 15 min, respectively. Apparently, for the other siliceous sensing layers, ammonia chemisorption is still unfolding, as response and recovery times continue to be as long as on the corresponding untreated silica surfaces. Therefore, the silica microspheres treated with HCl were selected as the best solid support for the luminescent sensing layer preparation.

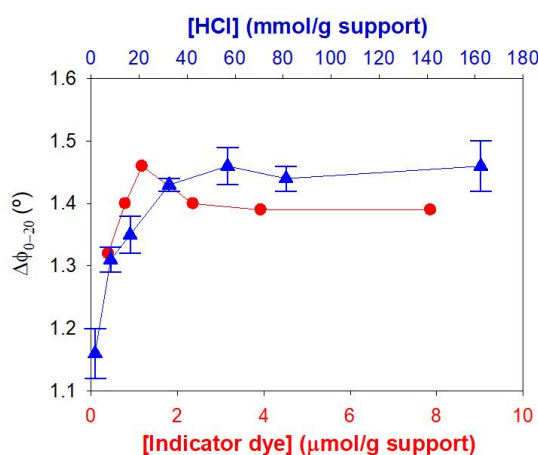
**Table 3.** Luminescence phase shift, sensitivity, response and recovery times of the  $\text{NH}_3$  sensing layers, where the Ru(II) indicator dye is adsorbed on the solid support from an aqueous HCl (20% v/v) solution.

Support/HCl <sup>a</sup>	$\phi_0$ (°) <sup>b</sup>	$\Delta\phi_{0-16}$ (°) <sup>c</sup>	$t_{90}$ (min) <sup>d</sup>	$t_{-90}$ (min) <sup>e</sup>
S5130	$41.9 \pm 0.1$	$4.5 \pm 0.9$	$\lesssim 50$	$\lesssim 400$
Silica $\mu$ -spheres	$23.17 \pm 0.03$	$1.0 \pm 0.1$	$\lesssim 10$	$\lesssim 15$
SCX	$42.20 \pm 0.07$	$1.42 \pm 0.07$	$\lesssim 45$	$\lesssim 200$
SAX	$45.44 \pm 0.09$	$1.75 \pm 0.05$	$\lesssim 120$	$\lesssim 200$

<sup>a</sup> See experimental section for a full description of the supports. <sup>b</sup> Phase shift in the absence of analyte. <sup>c</sup> Phase shift excursion measured from 0 to 16 ppmv  $\text{NH}_3$  in  $\text{CH}_4$ . <sup>d</sup> Response time for a 8 to 16 ppmv  $\text{NH}_3$  step variation (90% signal change); relative uncertainty 10% ( $n = 3$ ). <sup>e</sup> Recovery time for a 16 to 0 ppmv  $\text{NH}_3$  step variation (90% signal change); relative uncertainty 10% ( $n = 3$ ). All measurements were carried out at  $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ ,  $50 \text{ mL min}^{-1}$  flow and 78 kHz modulation frequency. Confidence intervals  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level;  $n = 3$ ).

### 3.3.2.2. Indicator dye and acid concentration

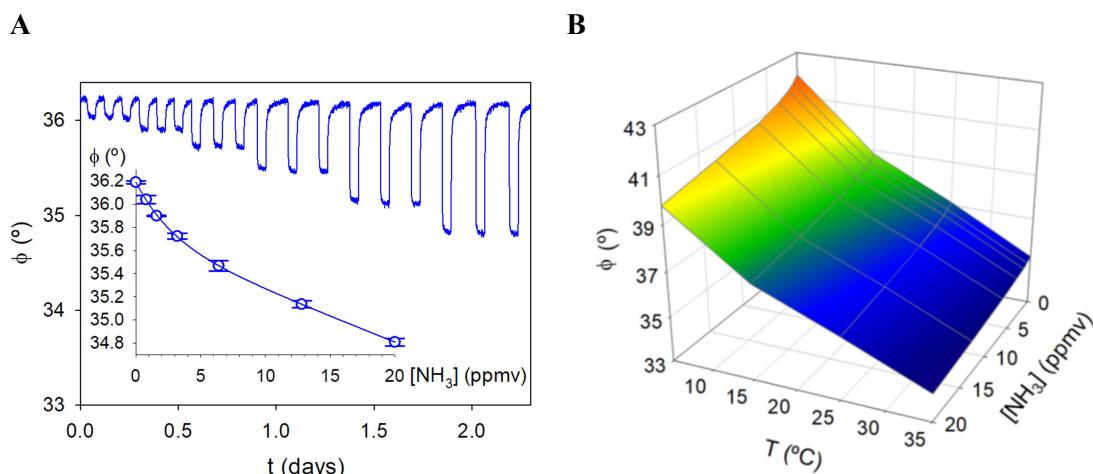
The indicator dye and acid concentrations on the silica microspheres were investigated due to their noticeable effect on the  $\text{NH}_3$  sensor response and performance. Therefore, several sensing layers with different  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2(\text{pyim})]$  and HCl concentrations were prepared and their response to  $\text{NH}_3$  was compared in terms of luminescence phase shift excursion ( $\Delta\phi_{0-20}$ ) (Figure 2). With respect to the indicator concentration, the highest sensitivity was attained for  $1.2 \mu\text{mol}$  (1.5 mg) per gram of silica. While higher concentrations of the indicator dye lead to aggregation and thereby, to excited state self-quenching, lower dye concentrations yield poor signal-to-noise ratio. Likewise, the largest phase shift excursion was reached above 40 mmol of HCl per gram of silica due to saturation of the number of silanol groups.



**Figure 2.** Sensitivity of the  $\text{NH}_3$  sensor as a function of the amount of indicator dye immobilized on silica microspheres (●), and amount of HCl used to pre-treat the silica microspheres (▲).  $\Delta\phi_{0-20}$  is the phase shift excursion from 0 to 20 ppmv  $\text{NH}_3$ . Confidence intervals  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level),  $n = 3$ ; at  $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ .

### 3.3.3. Analytical characterization

Taking into account the sought application where ammonia in biomethane cannot exceed 13 ppmv,<sup>3</sup> the luminescent NH<sub>3</sub> sensor was calibrated in the 0–20 ppmv concentration range in methane at different temperatures 5–35 °C. No difference was observed when the calibration was performed in dinitrogen instead of CH<sub>4</sub>. The sensor response function with the corresponding calibration curve and the sensor response surface at various temperatures, are depicted in Figure 3.



**Figure 3.** A) Luminescent NH<sub>3</sub> sensor response and the corresponding calibration plot in the 0–20 ppmv concentration range in methane at  $(25.0 \pm 0.2)$  °C. Confidence intervals  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level). B) Sensor calibration surface obtained in the same concentration range in methane at different temperatures. All measurements were carried out at 50 mL min<sup>-1</sup> gas flow rate and 78 kHz LED modulation frequency.

As it is observed, the ammonia sensor plots were non-linear, so that a biexponential decay function (E 1) was used to fit the experimental data points of the dose-response curve (a, b, c, d are the parameters of the best fit).

$$y = ae^{-bx} + ce^{-dx} \quad (\text{E } 1)$$

The analytical features of the luminescent NH<sub>3</sub> sensor such as its dynamic range, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), response and recovery times were determined and are summarized in Table 4.

**Table 4.** Analytical figures-of-merit of the luminescent NH<sub>3</sub> sensor at (25 ± 0.2) °C.

Parameter	Value
Dynamic range (ppmv)	0–20
Limit of detection (LOD; ppmv) <sup>a</sup>	0.15 ± 0.04
Limit of quantification (LOQ; ppmv) <sup>a</sup>	0.5 ± 0.1
Response time ( <i>t</i> <sub>90</sub> ; min)	4 ± 1 <sup>b</sup> 3 ± 1 <sup>c</sup>
Recovery time ( <i>t</i> <sub>-90</sub> ; min)	13 ± 1 <sup>b</sup> 7 ± 1 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> The LOD is calculated as 3 times the standard deviation of 10 samples of 0 ppmv NH<sub>3</sub>; the LOQ is determined as 10 times the standard deviation of 10 samples of 0 ppmv NH<sub>3</sub>. <sup>b</sup> For 0–20–0 ppmv NH<sub>3</sub> step changes (*n* = 3); data acquired every 60 s. <sup>c</sup> For 0–3.2–0 ppmv NH<sub>3</sub> step changes (*n* = 3); data acquired every 60 s.

Furthermore, the sensor repeatability and reproducibility were also evaluated (Table 5). Using the same luminescent sensing layer, each NH<sub>3</sub> concentration was measured 3 times and the corresponding phase shift excursions ( $\Delta\phi_{\text{[NH}_3\text{]}}$ ) were compared in terms of the relative standard deviation (RSD). Likewise, for each ammonia level, the responses of three different sensing layers were compared in the same way.

**Table 5.** Repeatability and reproducibility of the ammonia measurements carried out with the luminescent sensor system.

[NH <sub>3</sub> ] (ppmv)	Repeatability		Reproducibility	
	$\Delta\phi_{\text{[NH}_3\text{]}}$ (°) <sup>a</sup>	RSD (%) <sup>b</sup>	$\Delta\phi_{\text{[NH}_3\text{]}}$ (°) <sup>a</sup>	RSD (%) <sup>b</sup>
1.6	0.30 ± 0.03	4.5	0.33 ± 0.02	4.8
3.2	0.50 ± 0.04	3.7	0.51 ± 0.01	2.8
6.4	0.72 ± 0.05	3.1	0.74 ± 0.01	1.9
12.8	1.09 ± 0.01	0.5	1.10 ± 0.03	1.8
20.0	1.42 ± 0.03	1	1.44 ± 0.04	1.6

<sup>a</sup> Phase shift excursion from 0 to each [NH<sub>3</sub>] in methane; (25.0 ± 0.2) °C, 50 mL min<sup>-1</sup> flow and 78 kHz LED modulation frequency. Confidence intervals  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level); *n* = 3. <sup>b</sup> RSD is the relative standard deviation.

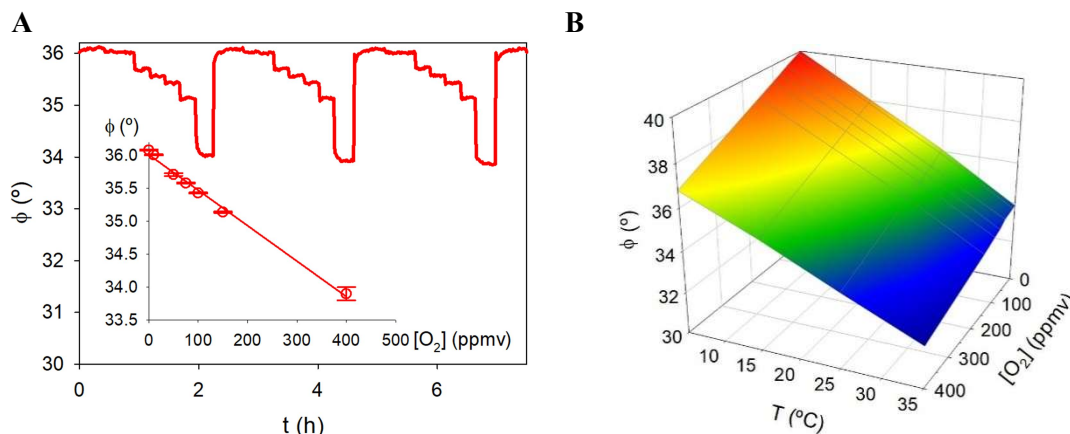
From the analytical calibration data obtained thereof, the luminescent NH<sub>3</sub> sensor displays high sensitivity (LOQ 0.5 ± 0.1 ppmv), is reasonably fast (response time under 4 min), and shows good measurement repeatability and reproducibility (RSD values below 5%).

### 3.3.4. Response to potentially interfering gases

The sensor response to other gases present in the biomethane was also investigated. The effect of O<sub>2</sub> (0–400 ppmv), hydrogen sulfide (0–10.1 ppmv), and methylmercaptan (0–20.0 ppmv) on the luminescent NH<sub>3</sub> sensor was evaluated. No interference was observed for those



levels of H<sub>2</sub>S and CH<sub>3</sub>SH. The O<sub>2</sub> interference is also negligible up to 10 ppmv ( $< 0.06^\circ$  phase shift excursion) (Figure 4A), the maximum level allowed for biomethane injection in distribution grids and interconnection points.<sup>39</sup> However, for vehicle fuel (CNG), where the oxygen levels are typically higher ( $\lesssim 300$  ppmv),<sup>33</sup> the NH<sub>3</sub> sensor response must be corrected.



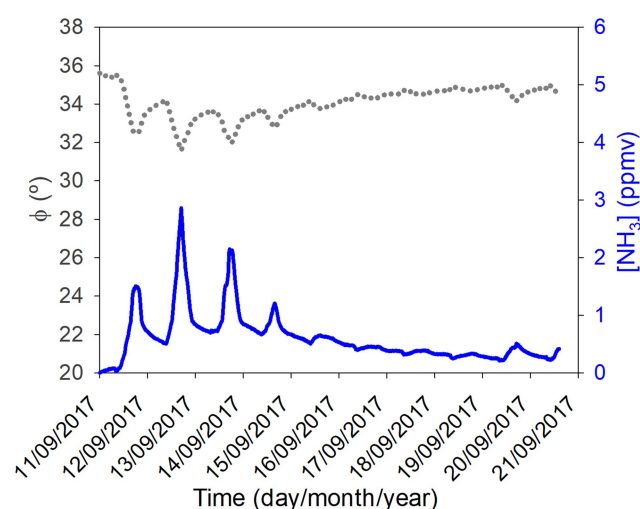
**Figure 4.** A) Luminescent NH<sub>3</sub> sensor response to O<sub>2</sub> and the corresponding calibration plot in the 0–400 ppmv oxygen concentration range at  $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ . Confidence intervals  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (at 95% confidence level). B) Luminescent sensor calibration surface obtained in the 0–400 ppmv O<sub>2</sub> concentration range at 5–35 °C. All measurements were carried out at 50 mL min<sup>-1</sup> gas flow rate and 78 kHz modulation frequency.

Correction of the ammonia measurements for the instant oxygen readings can be performed using a surface (Figure 4B) previously obtained with the luminescent *ammonia-sensitive material* at different temperatures and different O<sub>2</sub> levels (measured in biomethane with a luminescent O<sub>2</sub> sensor<sup>33</sup>). To do so, the actual O<sub>2</sub> concentration and temperature are measured simultaneously and the expected phase shift is determined from the surface shown in Figure 4B. Then the difference with the phase shift at zero O<sub>2</sub> concentration at the same temperature (Figure 4B) is calculated ( $\delta\phi$ ) and the result added to the observed phase shift of the ammonia sensor ( $\phi_{\text{obs}}$ ). The sum ( $\delta\phi + \phi_{\text{obs}}$ ) is introduced into the  $\phi$ -temperature-NH<sub>3</sub> surface (Figure 3B) and the actual ammonia concentration ( $\phi_{\text{NH}_3}$ ) is calculated thereof. This correction assumes that the effects of the excited state quenching by NH<sub>3</sub> and O<sub>2</sub> on the luminescence phase shift of the sensitive layer are additive. The latter relies on the approximation  $(\tan\phi) \sim \phi$  (for  $\phi < \pi/4$ ) that results from neglecting the second and higher terms of the Taylor series into which this trigonometric function can be developed. Once this assumption is accepted, the additivity of the phase shift contributions from the NH<sub>3</sub> and O<sub>2</sub> quenching follows directly from the (linear) Stern-Volmer equation that describes any purely dynamic or purely static photochemical quenching (E 2),<sup>31</sup> where the Stern-Volmer constant ( $K'_{\text{SV}}$ ) contains both quenching contributions.

$$\frac{\tau_0}{\tau} = \frac{\tan \phi_0}{\tan \phi} = 1 + K'_{SV} [\text{NH}_3] \quad (\text{E } 2)$$

### 3.3.5. *In situ* continuous $\text{NH}_3$ monitoring of the effluent on an industrial production plant

The developed luminescent  $\text{NH}_3$  sensor was deployed at a real biomethane generation facility built in a wastewater treatment plant (WWTP) in Southern Spain. Luminescence phase shift, temperature and oxygen concentration data were acquired every 6 min with the OSA Sensor System for four months, and the  $\text{NH}_3$  concentration was automatically calculated by linear interpolation on the calibration surfaces (Figures 3 and 4). The data point interval was selected taking into account the sensor response time to 3 ppmv  $\text{NH}_3$  (3 min and 7 min for 0–3 ppmv and 3–0 ppmv step changes, Table 4) and the previous ammonia logs and their variation rate in the biomethane production plant. A representative plot of the  $\text{NH}_3$  measurements over 10 days is depicted in Figure 5. All data displayed were corrected for the instant  $\text{O}_2$  and temperature readings, always reflecting the actual ammonia levels.



**Figure 5.** Continuous real-time monitoring of the  $\text{NH}_3$  concentration (blue solid line) with the luminescent sensor installed in a biomethane production plant, and the associated luminescence phase shift (gray dotted line) raw analytical signal (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

## 3.4. Conclusions

The new lifetime-based luminescent sensor can be a promising option for *in situ* continuous real-time  $\text{NH}_3$  monitoring. The sensor high sensitivity and relatively short response and recovery times, along with its ruggedness and low maintenance make it a competitive sensing technology. The optical sensor has demonstrated excellent sensing performance when

installed at a biomethane production line. When it comes to the sensor selectivity,  $\text{O}_2$  interference above 10 ppmv can be readily solved by correction using the instant readings from a (widespread) luminescent oxygen sensor based on the very same phase-sensitive detection technology. The versatility of the ammonia sensor is currently being explored in other fields.

### **3.5. Supplementary material**

### 3.5.1. State-of-the-art in $H_2S$ sensor devices

**Table S1.** State-of-the-art in optical sensors for  $NH_3$  measurements in the gas phase.<sup>a</sup>

Indicator dye	Measuring principle	Dyn. Range (ppmv)	LOD (ppmv)	$t_{90}$ (s)	$t_{-90}$ (s)	Stability	Ref.
Bromophenol blue	UV-VIS absorption	0–1100	3	38	840	n. r.	[13]
Bromocresol purple	UV-VIS absorption	0–85	n. r.	< 180	n. r.	n. r.	[15]
Bromocresol purple	UV-VIS absorption	0–10000	300	564	5	n. r.	[16]
Bromocresol purple	UV-VIS absorption	0–5	0.013	60	n. r.	n. r.	[17]
pH universal indicator	UV-VIS absorption	0–100	10	300 ( $t_{80}$ )	18	n. r.	[18]
Nine pH indicator dyes	Color measurements	0–10	0.3	120	disposable	n. r.	[40]
Bromocresol green	FRET luminescence lifetime	0–175	2	60	150	Poor	[21]
Fluorescein	FRET luminescence intensity	0–200	0.110	480–960	900–2340	Good	[22]
Fluorescein	FRET luminescence intensity	0–40000	10	1080–8580	n. r.	Good	[23]
Sodium rhodizonate	FRET luminescence intensity	0–300	3	5	n. r.	Poor	[24]
$Eu^{3+}$ MOF	Luminescence intensity	0–500	2.4	240	< 600	n. r.	[25]
$Eu^{3+}$ MOF	Luminescence intensity	0–1500	26.2	300	> 300	n. r.	[26]
Ru(II) complex	Luminescence lifetime	0–20	0.15	240	< 780	Very good	<i>This work</i>

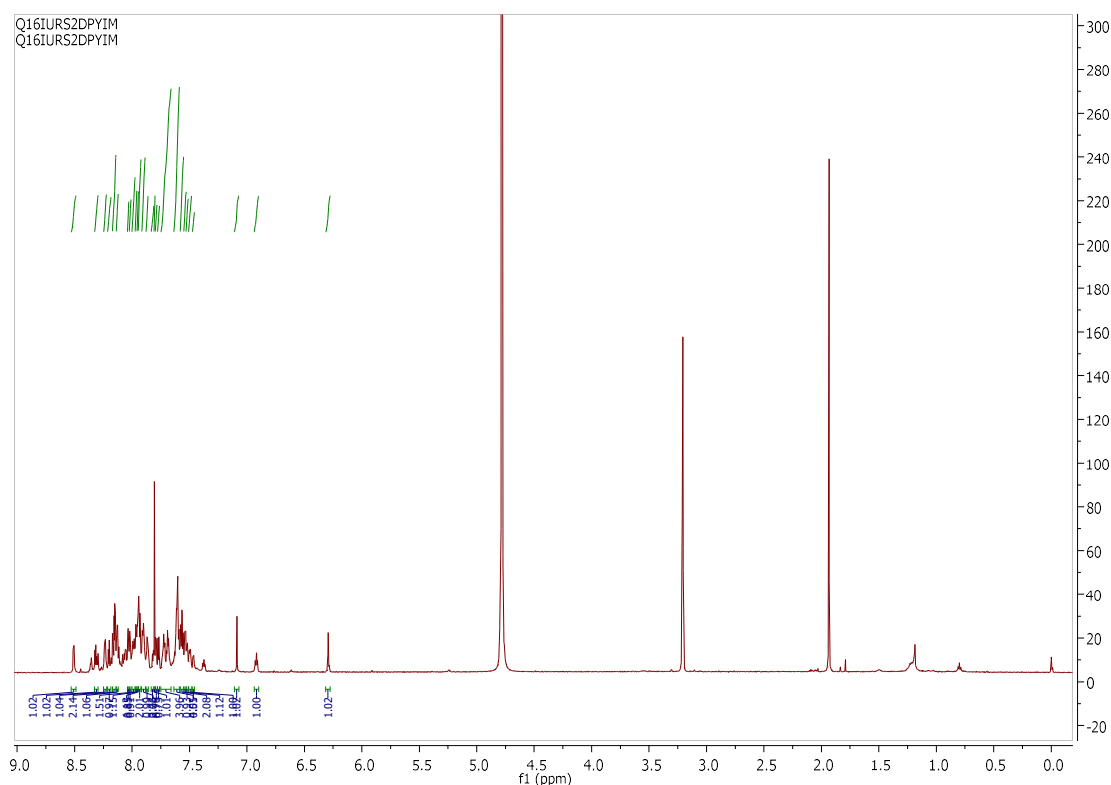
<sup>a</sup> n. r. = not reported

### 3.5.2. Luminescent probe synthesis and characterization

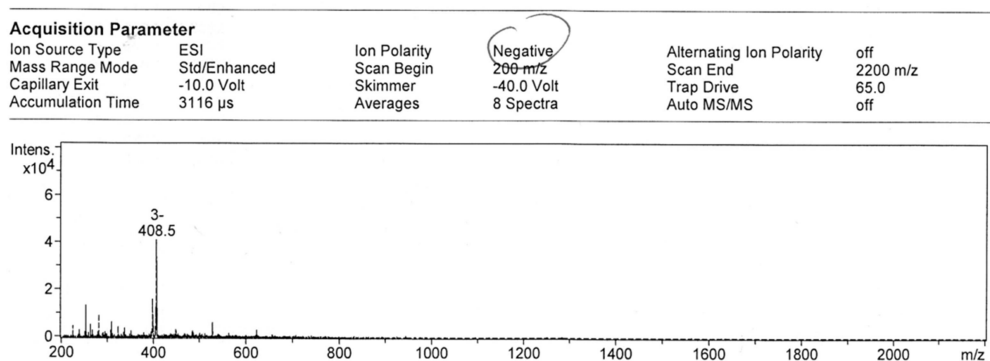
**Synthesis of Na<sub>2</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>(pyim)].** A suspension of Na<sub>4</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (0.150 g, 0.11 mmol) and 2-(2'-pyridyl)imidazole (0.032 g, 0.22 mmol) in 14 mL methanol, was heated to reflux in argon atmosphere for 24 h. Upon cooling to room temperature, the desired product was precipitated by adding to the crude reaction, a mixture of 100 mL acetone/diethyl ether (9:1). The resulting orange solid was filtered and washed with acetone and diethyl ether, and further purified in a LH-20 Sephadex column, using 1 mM NaOH and water as eluents (0.029 g, 21%). **<sup>1</sup>H NMR (700 MHz, CD<sub>3</sub>OH):** δ/ppm 8.50 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 8.24 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 8.20 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 8.17-8.14 (m, 2H), 8.13 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 8.03 (bs, 1H), 8.02 (bs, 1H), 7.99 (d, 5.6 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.90 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.80 (bs, 1H), 7.79 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 7 Hz, 2H), 7.69 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.63-7.58 (m, 4H), 7.57 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.54 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.10 (bs, 1H), 6.92 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 6.29 (bs, 1H). **MS (ESI-):** m/z [M]<sup>3-</sup> calculated for C<sub>56</sub>H<sub>34</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>RuS<sub>4</sub> 408.67, found 408.5.

**Synthesis of cis-[dichloro-bis(1,10-phenanthroline-4,7-di(phenylsulphonate))]ruthenium(II) tetrasodium (Na<sub>4</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]).** A mixture of bathophenanthroline disulfonic acid disodium salt (0.487 g, 0.89 mmol), Ru(III) chloride (0.100 g, 0.44 mmol) and lithium chloride (0.100 g, 0.44 mmol) in 5 mL of *N,N*-dimethylformamide anhydrous was heated to 153 °C under stirring, in argon atmosphere, for 6 h. Upon cooling to room temperature, the desired product was precipitated by keeping the reaction mixture in a closed container where an acetone/water (10:1 v/v) mixture was also placed in a separate beaker. The resulting violet solid was filtered, washed with acetone and dried under vacuum for 48 h (0.324 g, 55%). The *cis*-dichlorobis(chelate) complex was confirmed by UV-VIS absorption spectra. **UV-VIS (DMF):** λ (nm) (ε/M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) 564 (7500), 389 (9400), 303 (46800), 250 (24000). **UV-VIS (H<sub>2</sub>O):** λ (nm) (ε/M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) 516 (2500), 367 (8500) y 301 (14400).

<sup>1</sup>H NMR spectra were recorded on a Bruker AVIII 700MHz spectrometer (UCM Central Instrumentation Facilities). Mass spectra were acquired on a Bruker Esquire LC-Ion Trap spectrometer (UCM CIF) or on a Bruker Ultraflex MALDI-TOF spectrometer (UCM-CIF). UV-VIS absorption spectra were recorded with a Varian Cary 3Bio spectrophotometer (Palo Alto, CA).



**Figure S1.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2(\text{pyim})]$  (in  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).



**Figure S2.** Mass spectrum of Na<sub>2</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>(pyim)] recorded in CH<sub>3</sub>OH by electrospray ionization in negative detection mode; m/z: [M]<sup>3-</sup> calcd. for [C<sub>56</sub>H<sub>34</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>RuS<sub>4</sub>]<sup>3-</sup>, 408.67; found, 408.5.

## Acknowledgments

This work has been funded by Naturgy Energy Group (formerly Gas Natural Fenosa Engineering, Madrid, Spain) within the Smart Green Gas project granted in part by the CDTI “CIEN” program (ref. IDI-20141349), co-financed by the European Regional Development Fund. The collaboration of Inés Conde, Piedad Martínez, Carmen Guinea and John Chamberlain (Naturgy), and of Raul Cano and Pilar Icaran (FCC Aqualia, Madrid, Spain) for the field testing of the sensors is greatly acknowledged. Funding from the above mentioned sources is gratefully acknowledged.

## References

- [1] Appl, M. *Ammonia, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH: Weinheim, 2006. [https://doi.org/10.1002/14356007.a02\\_143.pub2](https://doi.org/10.1002/14356007.a02_143.pub2).
- [2] Timmer, B.; Olthuis, W.; van der Berg, A. Ammonia sensors and their applications-A review. *Sens. Actuators B: Chem.* **2005**, *107*, 666–677.
- [3] *Natural gas and biomethane for use in transport and biomethane for injection in the natural gas network - Part 1: specifications for biomethane for injection in the natural gas network*; EN 16723-1; European Organization for Standardization, 2016.
- [4] Rout, C.S.; Hegde, M.; Govindaraj, A.; Rao, C.N.R. Ammonia sensors based on metal oxide nanostructures. *Nanotechnology* **2007**, *18*, 205504.
- [5] Ganesh, R.S.; Navaneethan, M.; Patil, V.L.; Ponnusamy, S.; Muthamizhchelvan, C.; Kawasaki, S.; Patil, P.S.; Hayakawa, Y. Sensitivity enhancement of ammonia gas sensor based on Ag/ZnO flower and nanoellipsoids at low temperature. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, *255*, 672–683.
- [6] Dey, A.; Semiconductor metal oxide gas sensors: a review. *Mater. Sci. Eng. B* **2018**, *229*, 206–217.
- [7] Schönaauer-Kamin, D.; Fleischer, M.; Moos, R. Half-cell potential analysis of an ammonia sensor with the electrochemical cell Au | YSZ | Au, V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-WO<sub>3</sub>-TiO<sub>2</sub>. *Sensors* **2013**, *13*, 4760–4780.
- [8] Srivastava, V.; Jain, K. Highly sensitive NH<sub>3</sub> sensor using Pt catalyzed silica coating over WO<sub>3</sub> thick films. *Sens. Actuators B: Chem.* **2008**, *133*, 46–52.
- [9] Bai, H.; Shi, G. Gas sensors based on conducting polymers. *Sensors* **2007**, *7*, 267–307.
- [10] Sharma, S.; Hussain, S.; Singh, S.; Islam, S.S. MWCNT-conducting polymer composite based ammonia gas sensors: a new approach for complete recovery process. *Sens. Actuators B: Chem.* **2014**, *194*, 213–219.
- [11] Chaudhary, V.; Kaur, A. Enhanced and selective ammonia sensing behaviour of poly(aniline co-pyrrole) nanospheres chemically oxidative polymerized at low temperature. *J. Ind. Eng. Chem.* **2015**, *26*, 143–148.
- [12] Lackner, M. Tunable diode laser absorption spectroscopy (TDLAS) in the process industries-A review. *Int. Rev. Chem. Eng.* **2007**, *23*, 65–147.
- [13] Mills, A.; Wild, L.; Chang, Q. Porous plastic optical fiber sensor for ammonia measurement film sensors for gaseous ammonia. *Mikrochim. Acta* **1995**, *121*, 225–236.
- [14] Trinkel, M.; Trettnak, W.; Reininger, F.; Benes, R.; O'Leary, P.; Wolfbeis, O.S. Study of the performance of an optochemical sensor for ammonia. *Anal. Chim. Acta* **1996**, *320*, 235–243.
- [15] Zhou, Q.; Kritz, D.; Bonnell, L.; Sigel, G.H. Porous plastic optical fiber sensor for ammonia measurement. *Appl. Opt.* **1989**, *28*, 2022–2025.
- [16] Moreno, J.; Arregui, F.J.; Matias, I.R. Fiber optic ammonia sensing employing novel thermoplastic polyurethane membranes. *Sens. Actuators B: Chem.* **2005**, *105*, 419–424.

- [17] Tao, S.; Xu, L.; Fanguy, J.C. Optical fiber ammonia sensing probes using reagent immobilized porous silica coating as transducers. *Sens. Actuators B: Chem.* **2006**, *115*, 158–163.
- [18] Rodríguez, A.J.; Zamarreño, C.R.; Matías, I.R.; Arregui, F.J.; Domínguez Cruz, R.F.; May-Arriola, D.A.A. Fiber optic ammonia sensor using a universal pH indicator. *Sensors* **2014**, *14*, 4060–4073.
- [19] Wolfbeis, O.S.; Posch, H.E. Fibre-optic fluorescing sensor for ammonia. *Anal. Chim. Acta* **1986**, *185*, 321–327.
- [20] Lobnik, A.; Wolfbeis, O.S. Sol-gel based optical sensor for dissolved ammonia. *Sens. Actuators B: Chem.* **1998**, *51*, 203–207.
- [21] Chang, Q.; Sipior, J.; Lakowicz, J.R.; Rao, G. A lifetime-based fluorescence resonance energy transfer sensor for ammonia. *Anal. Biochem.* **1995**, *232*, 92–97.
- [22] Hsu, C.P.; Hejazi, Z.; Armagan, E.; Zhao, S.; Schmid, M.; Zhang, H.; Guo, H.; Weidenbacher, L.; Rossi, R.M.; Koebel, M.M.; Boesel, L.F.; Toncelli, C. Carbon dots and fluorescein: the ideal FRET pair for the fabrication of a precise and fully reversible ammonia sensor. *Sens. Actuators B: Chem.* **2017**, *253*, 714–722.
- [23] Widmer, S.; Dorrestijn, M.; Camerlo, A.; Urek, Š.K.; Lobnik, A.; Housecroft, C.E.; Constable, E.C.; Scherer, L.J. Coumarin meets fluorescein: a Förster resonance energy transfer enhanced optical ammonia gas sensor. *Analyst* **2014**, *139*, 4335–4342.
- [24] Ganiga, M.; Cyriac, J. FRET based ammonia sensor using carbon dots. *Sens. Actuators B: Chem.* **2016**, *225*, 522–528.
- [25] Hao, J.-N.; Yan, B. Simultaneous determination of indoor ammonia pollution and its biological metabolite in human body by use of a recyclable nanocrystalline lanthanide functionalized MOF. *Nanoscale* **2016**, *8*, 2881–2886.
- [26] Zhang, J.; Yue, D.; Xia, T.; Cui, Y.; Yang, Y.; Qian, G.A. Luminescent metal-organic framework film fabricated on porous Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> substrate for sensitive detecting ammonia. *Microporous Mesoporous Mater.* **2017**, *253*, 146–150.
- [27] Mader, H.S.; Wolfbeis, O.S. Optical ammonia sensor based on upconverting luminescent nanoparticles. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 5002–5004.
- [28] Strobl, M.; Walcher, A.; Mayr, T.; Klimant, I.; Borisov, S.M. Trace ammonia sensors based on fluorescent near-infrared emitting aza-BODIPY dyes. *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 2859–2865.
- [29] Maierhofer, M.; Borisov, S.M.; Mayr, T. Optical ammonia sensor for continuous bioprocess monitoring. *Proceedings* **2018**, *2*, 1041.
- [30] Müller, B.J.; Steinmann, N.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Ammonia sensing with fluoroionophores—a promising way to minimize interferences caused by volatile amines. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, *255*, 1897–1901.
- [31] Valeur, B.; Berberan-Santos, M.N. *Molecular fluorescence: principles and applications*, 2nd ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012.



- [32] Tormo, L.; Bustamante, N.; Colmenarejo, G.; Orellana, G. Can luminescent Ru(II) polypyridyl dyes measure pH directly? *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 5195–5204.
- [33] Urriza-Arsuaga, I.; Bedoya, M.; Orellana, G. Luminescent sensor for O<sub>2</sub> detection in biomethane streams. *Sens. Actuators B: Chem* **2019**, *279*, 458–465.
- [34] Urriza-Arsuaga, I.; Bedoya, M.; Orellana, G. Unprecedented reversible real-time luminescent sensing of H<sub>2</sub>S in the gas phase. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 2231–2238.
- [35] Wang, X.D.; Wolfbeis, O.S. Optical methods for sensing and imaging oxygen: materials, spectroscopies and applications. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 3666–3761.
- [36] Orellana, G.; Garcia-Fresnadillo, D. Environmental and industrial optosensing with tailored luminescent Ru(II) polypyridyl complexes. In *Optical Sensors*; Narayanaswamy, R., Wolfbeis, O.S., Ed.; Springer Ser. Chem. Sens. Biosens.: Berlin, 2004; pp 309–357.
- [37] André, P.L. *The surface properties of silica*; Wiley: Chichester, 1998.
- [38] Blomfield, G.A.; Little, L.H. Chemisorption of ammonia on silica. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1771–1781.
- [39] *Gas Infrastructure - Quality of Gas - Group H*; EN 16726; European Organization for Standardization, 2015.
- [40] Krishnan, S.T.; Son, K.H.; Kim, N.; Viswanath, B.; Kim, S.; An, J.H. Development of simple and sensitive hydrogel based colorimetric sensor array for the real-time quantification of gaseous ammonia. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *72*, 583–589.

## 4. Microwave-assisted synthesis of Ru(II) polypyridyl complexes containing pyrenyl units and their potential application in luminescent oxygen sensing

Idoia Urriza-Arsuaga, Maximino Bedoya\*, Guillermo Orellana\*

*Optical Chemosensors & Applied Photochemistry Group (GSOLFA), Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain*

\*Corresponding authors: G. Orellana, E-mail: Orellana@ucm.es

---

To be submitted

### Abstract

Luminescent sensors for trace O<sub>2</sub> quantification are based on indicator dyes with long-lived excited states (from  $\mu$ s to ms). Ru(II) polypyridyl complexes with pyrenyl groups covalently attached to the 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline ligands are promising indicator dyes in the development of highly sensitive O<sub>2</sub> sensors, as they exhibit longer luminescence lifetimes than the normal Ru(II) complexes. Herein, two Ru(II) complexes (RPPR3 and RBSPR3) with pyrenyl groups appended to the 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline ligands were prepared, through a microwave-assisted synthesis. The spectroscopic and photophysical properties of the two indicator dyes were studied and compared. For the RPPR3 complex, where the pyrene unit is appended to the 1,10-phenanthroline ligand through a single C-C bond, the luminescence exclusively occurs from the lowest lying metal-to-ligand charge transfer triplet excited state (<sup>3</sup>MLCT). Conversely, for the RBSPR3, where the pyrene chromophore is attached to the 2,2'-bipyridine ligand via a double C=C bond, two emissive excited states are shown, one corresponding to the <sup>3</sup>MLCT, and the other to the triplet intraligand excited state (<sup>3</sup>IL), localized on the pyrene moiety. Finally, the O<sub>2</sub> sensitivity of RPPR3 and RBSPR3 was tested in solution and immobilized in different solid supports. The resulting O<sub>2</sub> sensing layers did not show the high sensitivity exhibited in acetonitrile.

### 4.1. Introduction

Oxygen sensors have been successfully used in different applications (environmental, industrial, biological, medicinal, biotechnological), and have demonstrated their superiority

comparing to other O<sub>2</sub> sensing technologies, such as the well-known Clark electrode.<sup>1-5</sup> Luminescent O<sub>2</sub> sensors are highly sensitive and selective, do not suffer from electrical interferences, require almost no maintenance, are robust and stable, and allow a long distance monitoring.<sup>3,6</sup>

Optical O<sub>2</sub> sensors are based on the luminescence dynamic quenching of an indicator dye due to the presence of O<sub>2</sub> molecules. According to the Stern-Volmer equation (E 1), the resulting decreased in the emission intensity and lifetime of the photoexcited indicator dye is proportional to the O<sub>2</sub> concentration:<sup>7</sup>

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [\text{O}_2] = 1 + K_{SV} [\text{O}_2] \quad (\text{E } 1)$$

where  $I_0$  and  $I$  are the luminescence intensities in the absence and in the presence of O<sub>2</sub>,  $\tau_0$  and  $\tau$  are the luminescence lifetimes in the absence and in the presence of O<sub>2</sub>,  $K_{SV}$  is the Stern-Volmer constant and  $k_q$  is the bimolecular quenching constant.

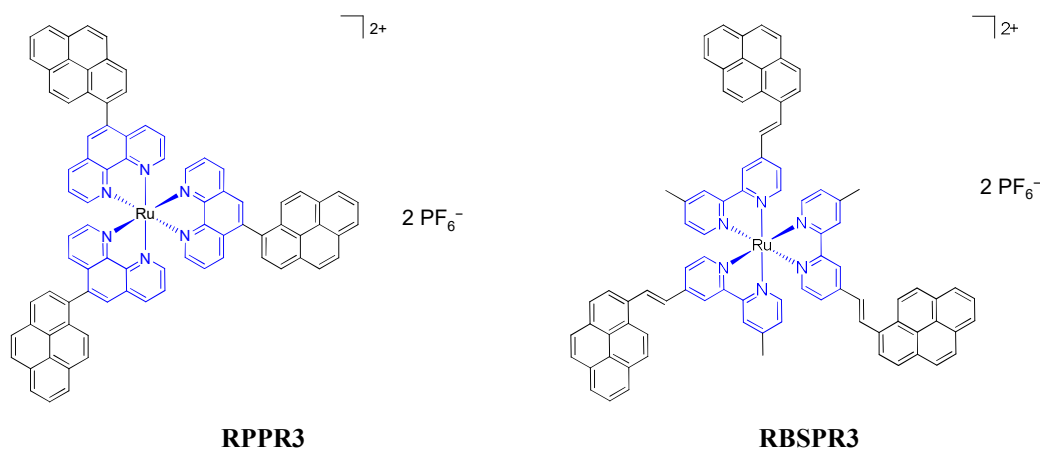
Luminescent O<sub>2</sub> sensors are attracting much attention in those applications where lower O<sub>2</sub> concentrations must be determined, such as ultrapure gases production, anaerobic microorganisms growing or biological research. These sensors consist of a long-lived luminescent indicator dye immobilized in an adequate solid support, which not only acts as a support for the dye, but also provides selectivity, sensitivity and (photo)stability to the sensor.<sup>8</sup> Several indicator dyes with long luminescence lifetimes (from  $\mu\text{s}$  to  $\text{ms}$ ) have been applied for trace O<sub>2</sub> sensing, such as Ru(II) polypyridyls,<sup>9-11</sup> Pd(II) and Pt(II) porphyrin complexes,<sup>12-13</sup> phosphorescent BF<sub>2</sub> and Al(III) chelates<sup>14</sup> or fullerenes.<sup>15-16</sup>

Ru(II) polypyridyl complexes are one of the most popular O<sub>2</sub> indicator dyes, due to their unique properties.<sup>17</sup> The high versatility of these coordination compounds enables us to prepare indicator dyes sensitive and selective to different analytes, only through an appropriate design and selection of the heterocyclic chelating ligands, with the advantage that all Ru(II) complexes can be interrogated with the same optoelectronic instrumentation.<sup>18-21</sup>

In the design and synthesis of Ru(II) polypyridyl complexes with long-lived excited states, two strategies have been followed to prolong the luminescence lifetimes of these compounds.<sup>10</sup> The first one is to increase the  $\pi$ -conjugation of the Ru(II) polyazaheteroaromatic chelating ligands, by linking polycyclic structures with an extensive conjugation to the 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline ligands.<sup>9,11</sup> The second approach is the attachment of a covalently linked second chromophore with an extended excited-state lifetime, like pyrene, in the 2,2'-bipyridine

or 1,10-phenanthroline chelating ligands. The excited-state lifetime of the complex is prolonged from a few  $\mu\text{s}$  up to hundreds of  $\mu\text{s}$ , due to an equilibrium established between the triplet excited states of the Ru(II) polypyridyl and pyrene chromophores.<sup>22-24</sup> The nature of the connecting covalent bridge between the two chromophores determines the emissive triplet excited states characteristics. Ru(II) complexes with the pyrene moiety connected to the bipyridine or phenanthroline ligands via C-C single bond and C $\equiv$ C triplet bond have been described. In the first case, equilibrium is established between the two chromophores and emission exclusively occurs from the lowest lying metal-to-ligand charge transfer triplet excited state ( $^3\text{MLCT}$ ).<sup>22</sup> However, in Ru(II) polypyridyls bearing appended ethynylpyrenyl groups, emission is produced from the triplet intraligand excited state ( $^3\text{IL}$ ), localized on the pyrene moiety, displaying long-lived room-temperature phosphorescence.<sup>25</sup>

These Ru(II) complexes with long-lived excited states, which are promising indicator dyes in the development of trace  $\text{O}_2$  sensors, have been scarcely immobilized in solid supports, and therefore applied to oxygen sensing.<sup>9</sup> The few examples published did not show the  $\text{O}_2$  sensitivity expected from the photophysical properties in solution.



**Figure 1.** Chemical structures of the Ru(II) complexes: tris(5-pyrenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) (RPPR3) and tris{4-methyl-4'-[(1E)-2-pyren-1-ylvinyl]-2,2'-bipyridine}ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) (RBSPR3).

Herein, we describe the microwave-assisted synthesis of two Ru(II) complexes covalently attached to pyrenyl groups through a single C-C bond (RPPR3, tris(5-pyrenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate)) and a double C=C bond (RBSPR3, tris{4-methyl-4'-[(1E)-2-pyren-1-ylvinyl]-2,2'-bipyridine}ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate)) (see Figure 1). For the first time, the spectroscopic and photophysical properties of the new RBSPR3 complex, where the pyrenyl group is attached through a double C=C bond, are studied and compared to the previously studied RPPR3 complex and other Ru(II) complexes such as RD3 tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II)

bis(hexafluorophosphate) and RB3 tris{4,7-bis[(1,1'-biphenyl)-4-yl]-1,10-phenanthroline}ruthenium(II) dichloride).<sup>11</sup> Finally, the O<sub>2</sub> sensing properties of the two indicator dyes were studied in solution and immobilized in different solid supports. The luminescence lifetime of the sensing layers was monitored with a custom-made fiberoptic phase-sensitive luminometer developed in our research group.<sup>11</sup>

## 4.2. Materials and methods

### 4.2.1. Chemicals, supports and gases

Ru(III) chloride hydrate (99%) and ammonium hexafluorophosphate (99%) were from Fluorochem (Derbyshire, UK). 1-Pyreneboronic acid (95-108%) and 5-bromo-1,10-phenanthroline monohydrate (97%) were from TCI Europe (Zwijndrecht, Belgium). *n*-Butyllithium (2.5 M in hexane), 1-pyrenecarboxaldehyde (99%), 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine (99%) and tetrahydrofuran anhydrous were from Sigma-Aldrich Química (Madrid, Spain). Diisopropylamine (99.0+%) was from Alfa Aesar (Haverhill, MA). Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (99.9%), acetonitrile (HPLC grade), toluene (HPLC grade), dichloromethane (HPLC grade) and chloroform (HPLC grade) were from Acros (Geel, Belgium). Acetone, ethyl acetate, methanol and ethanol (all HPLC grade) were from VWR Eurolab (Barcelona, Spain). Ethylene glycol (extra pure), glacial acetic acid, sodium sulfate anhydrous and silica gel 60 (40-60 µm, for flash chromatography) were from Scharlau (Sentmenat, Spain). Barium hydroxide was from Panreac (Barcelona, Spain). Purified water was from a Direct-Q 3UV system (Merck Millipore, Bedford, MA).

Hydrophilic fumed silica S-5130 (0.007 µm particle size) was from Sigma-Aldrich (S5130), benzenesulfonic acid-functionalized glass beads (Isolute SCX) (50 µm particle size) were from Biotage (Uppsala, Sweden) (SCX), hydrophobic fumed silica Aerosil R812 (40 µm particle size) was from Evonik (Hanau, Germany) (R812), Silicone Dow Corning 3140 was from Dow Corning (Wiesbaden, Germany; composition by weight: > 60 % dimethylsiloxane, 10–30 % “trimethylated” silica and 5–10 % methyltrimethoxysilane) (DC3140) and 3M Empore C18 extraction disks (C18 bonded silica adsorbent particles entrapped into a matrix of polytetrafluoroethylene (PTFE)) (Empore C18).

Argon (+99.995%) was from cylinders provided by Praxair (Madrid, Spain). Nitrogen (99.9999%) and methane (99.9995%) were from cylinders supplied by Contse (San Sebastián de los Reyes, Spain); both gases were further passed through an Agilent OT3-2-SS oxygen/water trap (Santa Clara, CA) to reach the desired purity (<15 ppbv O<sub>2</sub> and <25 ppbv moisture).

Certified binary mixtures of O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub> with concentrations of 100 and 150 ppmv were from Constse (real values of 100.5 and 153.2 ppmv, respectively, with an uncertainty of  $\pm 3\%$ , using a coverage factor of 2).

#### 4.2.2. Instrumentation

Microwave synthesis reactions were performed in a Monowave 200 microwave synthesis reactor (Anton Paar, Madrid, Spain), using 10 mL reaction vials made of borosilicate glass. <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectras were recorded on a Bruker DPX 300MHz BACS-60 spectrometer or on a Bruker AVIII 700MHz (UCM Central Instrumentation Facilities). Mass spectra were acquired on a Bruker Esquire LC-Ion Trap spectrometer (UCM Central Instrumentation Facilities).

UV-VIS absorption spectra were recorded with a Varian Cary 3Bio spectrophotometer (Palo Alto, CA). Steady-state luminescence spectra in solution were recorded with a FluoroSENS spectrofluorometer (Gilden Photonics, Glasgow, UK), equipped with a red-extended response Hamamatsu R928 photomultiplier. Emission lifetimes of the indicator dyes in solution were determined by single-photon timing (SPT) using a Horiba FluoroMax-4TCSPC spectrofluorometer (Horiba, NJ), equipped with a pulsed Horiba NanoLED 470LH blue laser diode (463 nm, <1 ns FWHM), an Ortec 416A delay generator, and a Hamamatsu R928P photomultiplier. A 467-nm bandpass interference filter (Chroma) was used to clean the laser diode blue emission, while the luminescence was monitored through a 550 + 570 nm long-pass colored glass filter combination (CVI Laser Optics). All spectroscopic measurements in solution were carried out in 10x10 mm Suprasil cells with PTFE stopper (Hellma) or 10x10 mm Suprasil cells with quartz-to-glass graded seal neck (Hellma) fitted with a Rotaflo high-vacuum stopcock (Fisher Scientific), which ensures enough tightness during measurements in the absence of oxygen.

Phase-shift luminescence measurements were performed with a field-deployable fiberoptic instrument developed in our research group<sup>11</sup> that is able to monitor sequentially up to 4 different parameters using phase-sensitive detection of the modulated luminescence coming from each dedicated sensing membrane (e.g. NH<sub>3</sub>, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S and temperature). The O<sub>2</sub>-sensitive luminescent layers were placed in a custom-made 4-channel stainless steel flow cell, over a 400-mesh nylon sieve (Filtru Vibración, Barcelona, Spain); the ensemble is covered with a plastic circular optical window (10 x 1 mm, LasIRvis, Cornwall, UK). Finally, an acrylonitrile-butadiene O-ring (7.0 x 1.5 mm) and a PVC adapter screw hold the sensitive layer into the measuring cell providing the required gas tightness. All calibration gas mixtures were prepared with a dedicated gas mixing system (PID Eng&Tech, Alcobendas, Spain), consisting of 3

electronic mass-flow controllers (Bronkhorst F-211CV, Ruurlo, The Netherlands) with maximum flows of 20, 50 and 300 mL min<sup>-1</sup>, respectively, all handled by the manufacturer Process@ v.2.2.1.0 software. The working temperatures (5–35 °C) were set and kept within ± 0.2 °C by a custom-made thermostatic system based on a Peltier cell, a thermal insulator, a ventilated heatsink and a Pt-100 probe.

#### 4.2.3. Indicator dye synthesis

*5-pyrenyl-1,10-phenanthroline (PPR)*. This ligand was synthesized as described in the literature.<sup>22</sup> <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ/ppm 9.11 (dd, 1H, *J* = 4.5 and 1.5 Hz), 9.04 (dd, 1H, *J* = 4.2 and 1.8 Hz), 8.44 (dd, 1H, *J* = 8.1 and 1.5 Hz), 8.37 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 8.27 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 8.15–8.24 (m, 3H), 8.07 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 8.02 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz), 7.94 (d, 1H, *J* = 9.3 Hz), 7.73 (dd, 1H, *J* = 8.1 and 4.5 Hz), 7.66 (dd, 1H, *J* = 8.4 and 1.8 Hz), 7.59 (d, 1H, *J* = 9.3 Hz), 7.46 (dd, 1H, *J* = 8.4 and 4.2).

*Tris(5-pyrenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) (RPPR3)*. The Ru(PPR)<sub>3</sub>(PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> complex was prepared from ruthenium(II) trichloride trihydrate and the 5-pyrenyl-1,10-phenanthroline ligand in a microwave synthesis reactor.<sup>26</sup> RuCl<sub>3</sub> (19 mg, 0.07 mmol) and PPR (91 mg, 0.24 mmol) were dissolved in 3 mL of ethylene glycol. The suspension was degassed with Ar for 20 minutes. The 10 mL reaction vial was irradiated in the microwave reactor for 30 minutes at 190 °C. Once the reaction vial was cooled to room temperature, [Ru(PPR)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> was precipitated by adding a saturated ammonium hexafluorophosphate concentrated aqueous solution. The dark-orange precipitate was collected by vacuum filtration and washed with water and diethyl ether. The Ru(II) complex was purified by flash chromatography in silica gel with dichloromethane and acetone (7:3 v/v) (55 mg, 49% yield). **MS (ESI+)**: *m/z* [M]<sup>2+</sup> calculated for C<sub>84</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>Ru 621.15, found 621.3.

*4-Methyl-4'-(2-hydroxy-2-pyren-1-ylvinyl)-2,2'-bipyridine (BOPR)*. This ligand was synthesized as described in the literature.<sup>23</sup> <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ/ppm 8.52 (d, 1H, *J* = 5.1 Hz), 8.44 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz), 8.30 (d, 1H, *J* = 9.3 Hz), 8.13 (s, 2H), 8.10 (m, 2H), 8.00 (d, 1H, *J* = 9.3 Hz), 7.98 (s, 2H), 7.91 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.74 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.57 (d, 1H, *J* = 5.1 Hz), 7.51 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz), 6.09 (t, 1H, *J* = 5.7), 3.42 (m, 2H), 2.38 (s, 3H). **MS (ESI+)**: *m/z* calculated for C<sub>29</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OH<sup>+</sup> 415.2, found 415.1.

*Tris{4-Methyl-4'-[(1E)-2-pyren-1-ylethenyl]-2,2'-bipyridine}ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) (RBSPR3)*. The Ru(BSPR)<sub>3</sub>(PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> complex was prepared from ruthenium(II) trichloride trihydrate and the 4-methyl-4'-(2-hydroxy-2-pyren-1-ylethyl)-2,2'-bipyridine ligand in a microwave synthesis reactor.<sup>26</sup> RuCl<sub>3</sub> (30 mg, 0.11 mmol) and BOPR

(157 mg, 0.38 mmol) were dissolved in 3 mL of ethylene glycol. The suspension was degassed with Ar for 20 minutes. The 10 mL reaction vial was irradiated in the microwave reactor for 15 minutes at 190 °C. Once the reaction vial was cooled to room temperature,  $[\text{Ru}(\text{BSPR})_3]^{2+}$  was precipitated by adding a saturated ammonium hexafluorophosphate concentrated solution. The orange precipitate was collected by vacuum filtration, washed with water and dried under vacuum for 48 h. The Ru(II) complex was purified from ligand impurities by washing it with ethyl acetate (44 mg, 24% yield).  **$^1\text{H}$  NMR** (700 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta/\text{ppm}$  8.84 (t, 3H,  $J = 9.8$  Hz), 8.78 (dd, 3H,  $J = 5.6$  and 16.1 Hz), 8.73 (m, 3H), 8.66 (t, 3H,  $J = 9.8$  Hz), 8.48 (m, 3H), 8.30 (m, 12H), 8.17 (m, 6H), 8.08 (m, 3H), 7.86 (dd, 2H,  $J = 3.5$  and 5.6 Hz), 7.79 (t, 1H,  $J = 5.6$  Hz), 7.76 (dd, 1H,  $J = 3.5$  and 5.6 Hz), 7.68 (t, 2H,  $J = 5.6$  Hz), 7.65 (t, 3H,  $J = 4.2$  Hz), 7.55 (dd, 3H,  $J = 16.1$  and 4.2 Hz), 7.35 (dd, 3H,  $J = 9.8$  and 4.2 Hz), 2.64 (d, 9H).  **$^{13}\text{C}$  NMR** (700 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta/\text{ppm}$  21.7, 121.9, 124.2, 125.4, 125.8, 126.1, 126.6, 126.8, 127.1, 127.4, 128.0, 128.3, 128.8, 129.7, 129.8, 130.6, 131.3, 132.1, 132.8, 133.5, 134.0, 147.9, 151.8, 152.2, 152.9, 158.1, 158.8. **MS (ESI+)**:  $m/z$   $[\text{M}]^{2+}$  calculated for  $\text{C}_{87}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{Ru}$  645.7, found 645.4.

For their NMR and MS spectrum, see the Supporting Information.

#### 4.2.4. Spectroscopic and photophysical characterization of the luminescent probes in solution

All measurements were carried out in air and under  $\text{N}_2$ . Samples were deoxygenated by sparging the dye solutions with ultrapure  $\text{N}_2$  (+99.9999%) at  $5 \text{ mL min}^{-1}$  during 20 minutes, through stainless steel needle. Luminescence quantum yields were referenced to tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) bis(hexafluorophosphate) in acetonitrile (0.018 in air and 0.095 in pure  $\text{N}_2$ ).<sup>27</sup>

#### 4.2.5. Sensing layer preparation

##### 4.2.5.1. Inorganic polymer supports (S5130, R812 and SCX)

To a suspension of 20 mg of solid support in 2.5 mL of acetonitrile, the appropriate volume ( $\mu\text{L}$ ) of the stock solution containing the indicator dye (ca.  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) was added under stirring (0.023 mg RPPR3 per 10 mg solid support and 0.015 mg RBSPR3 per 10 mg solid support). After further 10 min without stirring, the solvent was evaporated under reduced pressure.

##### 4.2.5.2. Organic polymer supports (DC3140 and Empore C18)

A mixture of silicone and silica S5130 (10 % by weight) was prepared and applied by knife-coating onto a polyester support. After a curing time of 15 days at room temperature, the resulting film was removed from the polyester sheet mechanically. The silicone film was



immersed in a 1 mM solution of the indicator dye (RPPR3 and RBSPR3) in dichloromethane for five minutes. Finally the silicone membrane was dried in air and room temperature for 48 hours. 5-mm dia. sensing membranes were obtained by cutting the manufactured silicone membrane with a 5-mm dia. stainless steel die. The thickness of the film was determined with a digital micrometer being  $200 \pm 10 \mu\text{m}$ .

Empore C18 disks of 5-mm dia. were obtained cutting the commercial Empore C18 4.7 cm dia., using a 5-mm dia. stainless steel die. The 5-mm disk was immersed in 300  $\mu\text{L}$  of a 20  $\mu\text{M}$  solution of the indicator dye (RPPR3 and RBSPR3) in acetonitrile. Once all the indicator solution is adsorbed, the film was dried in air and room temperature for 48 hours. The thickness of the film was determined with a digital micrometer being  $463 \pm 2 \mu\text{m}$ .

#### ***4.2.6. Oxygen measurements with the luminescent sensing layers***

The luminescent sensing layers were evaluated in the laboratory in the 0–30 ppmv  $\text{O}_2$  concentration range. A gas mixing system (described above) was used to prepare gas samples of different  $\text{O}_2$  concentrations. A 1/8" stainless steel tube connected the gas mixing system with the flow-through measuring cell. All measurements were performed at atmospheric pressure and controlled temperature ( $15.0 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) using a thermoelectric system.

### **4.3. Results and discussion**

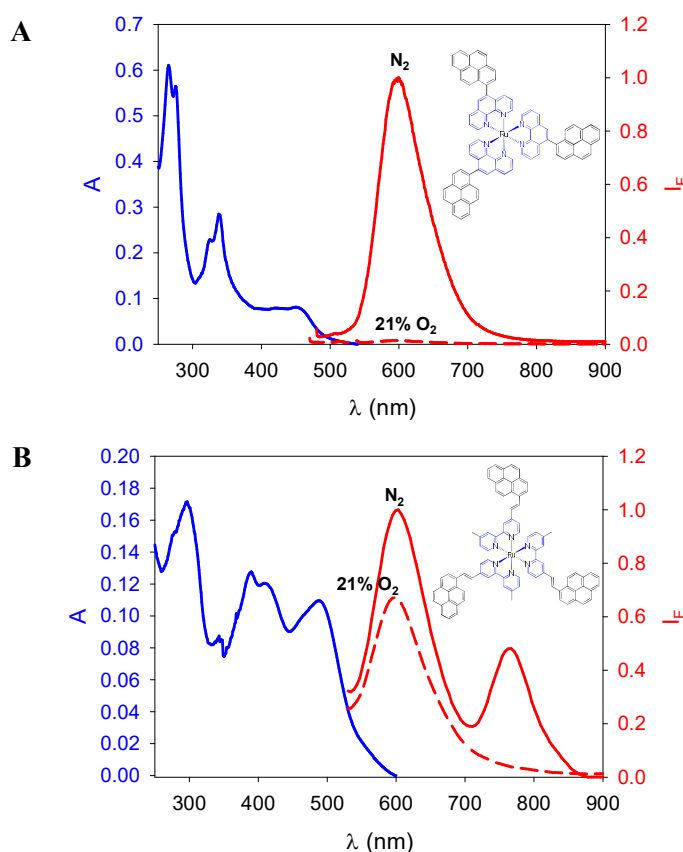
#### ***4.3.1. Synthesis of Ru(II) polypyridyl complexes***

The microwave-assisted synthesis of both Ru(II) complexes (RPPR3 and RBSPR3) considerably reduced the reaction time (24 h to 20 min). In the case of RPPR3 no significant enhancement of the reaction yield was observed (49 % yield in microwave-assisted synthesis and 46 % yield in conventional synthesis). In the RBSPR3 synthesis, the Ru(II) complex was directly obtained from  $\text{RuCl}_3$  and BOPR, without the need to performed a previous reaction to obtain the BSPR ligand from the BOPR ligand. In this case, the reaction was faster and simpler.

#### ***4.3.2. Spectroscopic and photophysical characterization of the Ru(II) polypyridyl complexes***

The UV-VIS absorption and emission spectra of RPPR3 and RBSPR3 in acetonitrile are depicted in Figure 2. The spectroscopic and photophysical data of the synthesized Ru(II) complexes are collected in Table 1.

The RPPR3 absorption spectra showed a broad absorption band in the visible region (449 nm), assigned to the MLCT transition of Ru(II) polypyridyls, and two more intense absorption bands in the UV region, attributed to the ligand centered (LC) transitions of the pyrene and unsubstituted 1,10-phenanthroline  $\pi$ - $\pi^*$  transitions (340 and 265 nm) (Figure 2A). When compared to other Ru(II) polypyridyls (RD3 or RB3), the introduction of a pyrenyl moiety through a single C-C bond in the 1,10-phenanthroline ligands, induced small changes in the UV-VIS absorption spectra, which indicated a scarce electronic interactions between the two chromophores.<sup>23</sup> On the other hand, the pyrenyl connection to the 2,2'-bipyridine ligands through an ethenyl bond (C=C) (RBSPR3), produced a significant change in the absorption spectra. Compared to RPPR3, absorption bands were bathochromically shifted to 295, 390 and 488 nm, LC bands were broader and less intense, and MLCT absorption band was considerably enhanced (Figure 2B).



**Figure 2.** Absorption (blue solid line) and normalized luminescence spectra ( $\lambda_{\text{exc}} = 450$  nm) of the O<sub>2</sub> indicator dyes in acetonitrile at  $25 \pm 2$  °C. Emission spectra are displayed in air (red solid line) and in pure N<sub>2</sub> (red dashed line). A) RPPR3; B) RBSPR3.

When excited at 450 nm, in deoxygenated solution, an intense red emission around 600 nm, attributed to the typical deactivation of the <sup>3</sup>MLCT state in Ru(II) complexes, was observed for the RPPR3 complex. In the case of RBSPR, two emission bands were detected at 612 and 763 nm, which can be assigned to the <sup>3</sup>MLCT and <sup>3</sup>IL emissive excited states, respectively.<sup>10,28</sup>

The emission intensity of the <sup>3</sup>IL band was extremely sensitive to oxygen and this band was not observed in aerated solutions.

**Table 1:** Spectroscopic and photophysical data of the O<sub>2</sub> indicator dyes in acetonitrile solution.

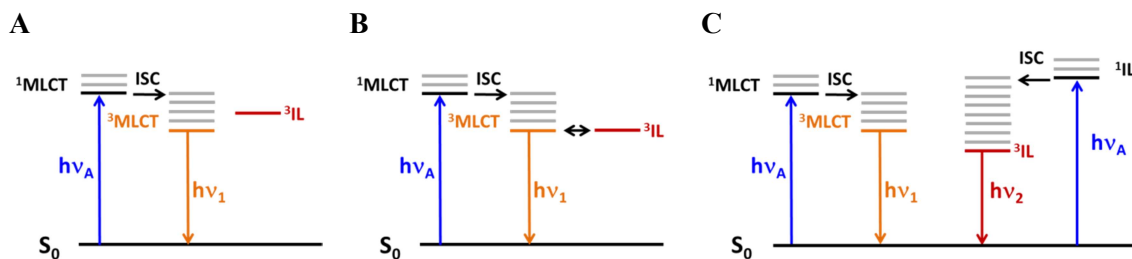
	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ (nm) <sup>a</sup>	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ (nm) <sup>a</sup>	$\tau^{\text{b,d}}$ (μs)	$\tau_0^{\text{c,d}}$ (μs)	$\Phi^{\text{b,e}}$ x 10 <sup>2</sup>	$\Phi^{\text{c,e}}$ x 10 <sup>2</sup>	$\tau_0/\tau$
RPPR3	449 340 265	598	0.279 ± 0.003	148 ± 8.5 <sup>g</sup>	0.026 ± 0.004	5.3 ± 0.7	530
RBSPR3	488 390 295	612 763	0.172 ± 0.002 (94 %) 0.57 ± 0.02 (6 %)	0.80 ± 0.02 (67 %) 6.4 ± 0.1 (33 %)	0.012 ± 0.001	0.018 ± 0.001	13
RD3 <sup>f</sup>	462 277	618	0.179 ± 0.002	5.4 ± 0.2	1.4 ± 0.1	40.4 ± 0.5	30
RB3 <sup>f</sup>	463 289	619	0.207 ± 0.002	6.8 ± 0.1	1.41 ± 0.06	43 ± 1	32

<sup>a</sup> Uncertainty: ± 1 nm. <sup>b</sup> In air. <sup>c</sup> In N<sub>2</sub>. <sup>d</sup> Luminescence lifetime (τ) ( $\lambda_{\text{exc}}$  = 463 nm;  $\lambda_{\text{em}}$  = 610 nm) measured by SPT,  $n$  = 4. <sup>e</sup> Luminescence quantum yield (Φ) measured upon excitation at 460 nm,  $n$  = 4. At 25 ± 2 °C and atmospheric pressure of 698–713 Torr. Confidence intervals ±  $t_{S_{n-1}}$   $n^{-1/2}$  (at 95% confidence level),  $n$  = 4. <sup>f</sup> Ref. 11. <sup>g</sup> Literature lifetime data 148 ± 8.5 μs (Ref. 22).

Time-resolved emission spectra showed a monoexponential emission decay for RPPR3, with a lifetime much longer than traditional Ru(II) polypyridyls (148 μs).<sup>22</sup> In this complex, the luminescence occurs exclusively from the <sup>3</sup>MLCT excited state. Upon photoexcitation, an equilibrium is established between the nearly isoenergetic <sup>3</sup>MLCT and <sup>3</sup>IL excited states. The pyrene-localized <sup>3</sup>IL state acts as an energy reservoir and populates the emissive <sup>3</sup>MLCT state, through a triplet-triplet electronic energy transfer, extending the luminescence lifetime (see Figure 3B).<sup>28</sup> For RBSPR3, a biexponential emission decay was obtained, with a short lifetime of 0.80 μs and a longer lifetime 6.4 μs (see Table 1). In this case, the steady-state and time-resolved emission data suggested that the <sup>3</sup>MLCT and <sup>3</sup>IL excited states were nonequilibrated. Thus, luminescence occurs from both <sup>3</sup>MLCT and <sup>3</sup>IL excited states (see Figure 3C). The absence of an equilibrium between the two excited states can be attributed to the relative energy of the two triplet excited states, the nature of the connection between the two chromophores, and/or its relative orientation.<sup>28</sup>

The luminescence quantum yield of RPPR3 was smaller comparing to Ru(II) polypyridyls such as RD3 or RB3, but similar to that reported for Ru(II) complexes containing pyrenyl moieties.<sup>9,22</sup> Unlike RPPR3, the luminescence quantum yield of RBSPR3 was extremely small (0.00018). Probably, the absence of an equilibrium between the two excited states and,

therefore, the inefficient reversible energy transfer between the  $^3\text{IL}$  and  $^3\text{MLCT}$  impedes the repopulation of the emissive state, lowering the luminescence quantum yield.<sup>29</sup>



**Figure 3.** Simplified energy level diagram and emission excited states for Ru(II) polypyridyls complexes without pyrenyl moieties (A) and with pyrenyl chromophores:  $^3\text{MLCT}$  emission with triplet excited states equilibrium (B) and  $^3\text{MLCT}$  and  $^3\text{IL}$  emission in nonequilibrated triplet excited states (C).

The emission intensity of both Ru(II) complexes was sensitive to the presence of oxygen (see Figure 2). The sensitivity to  $\text{O}_2$  is directly related to the luminescence lifetime of the Ru(II) complex ( $\tau_0/\tau$ ). RPPR3 complex was extremely sensitive to  $\text{O}_2$ , compared not only to RBSPR3, but also to other indicator dyes used in oxygen sensing (see Table 1).<sup>2</sup> On the other hand, RBSPR3 was poorly sensitive to  $\text{O}_2$ . In aerated solution, although the more sensitive  $^3\text{IL}$  state was totally quenched, the emissive and predominant  $^3\text{MLCT}$  was poorly quenched.

#### 4.3.3. $\text{O}_2$ sensitivity of the immobilized indicator dyes

The two Ru(II) complexes containing pyrenyl moieties were tested as  $\text{O}_2$  sensing indicator dyes. The development of an oxygen luminescent sensor requires an appropriate selection of both, the indicator dye and the solid support, as its combination determines the dynamic range, sensitivity, selectivity, response time, and (photo)stability of the resulting  $\text{O}_2$  sensor.<sup>8</sup>

For that purpose, a variety of solid supports were selected (see Material and Methods section) to prepare different sensing layers with the two Ru(II) complexes studied in this work. Silicone is a hydrophobic organic polymer with a high  $\text{O}_2$  permeability, which has been widely used in  $\text{O}_2$  optical sensor development.<sup>30</sup> The polytetrafluoroethylene (PTFE) is also highly permeable to  $\text{O}_2$  and has been employed in the development of sensitive optical  $\text{O}_2$  sensor.<sup>31</sup> Finally, different silica-based inorganic supports with different polarity and particle size were also tested. The good adsorbing properties of these materials along with their high specific surface area, make them an adequate choice for  $\text{O}_2$  sensitive sensor manufacturing.<sup>32</sup>

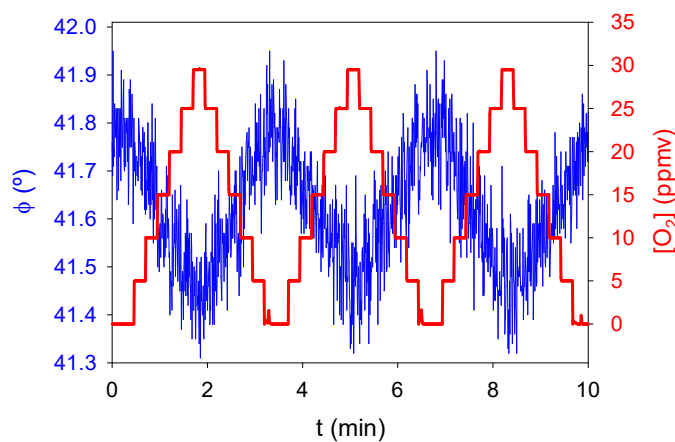
The resulting sensing layers were interrogated with a fiber-optic phase-sensitive luminometer and their sensitivity was evaluated in terms of luminescence phase shift excursion in the 0 to 30 ppmv  $\text{O}_2$  concentration range (see Table 2).

**Table 2:** Sensitivity of the O<sub>2</sub>-sensitive layers in terms of luminescence phase shift excursion in the 0–30 ppmv concentration range ( $\Delta\phi_{0-30}$ ) and luminescence phase shift in the absence of O<sub>2</sub> ( $\phi_0$ ).

	S5130		R812		SCX		DC3140		Empore C18	
	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$
RPPR3	41.88	0.52	26.33	0.45	19.77	0.40	3.80	~ 0	53.27	0.27
RBSPR3	12.31	~ 0	20.51	~ 0	7.65	0.05	0.56	~ 0	5.92	~ 0.0
RD3	41.60	1.01	46.99	0.91	48.63	1.03	50.65	~ 0	53.96	0.16
RB3	42.40	1.09	47.67	0.85	48.21	1.09	50.48	~ 0	55.60	0.12

<sup>a</sup> Uncertainty:  $< \pm 0.04^\circ$  for RD3 and RB3 and  $< \pm 0.1^\circ$  for RPPR3 and RBSPR3. <sup>b</sup> Luminescence phase shift in the absence of O<sub>2</sub>. <sup>c</sup> Luminescence phase shift excursion in the 0–30 ppmv O<sub>2</sub> concentration range. At  $15.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ .

As expected from the previous study in acetonitrile, all RBSPR3-based sensing layers were no sensitive to O<sub>2</sub> in the tested concentration range. On the other hand, RPPR3 was a promising indicator dye for trace O<sub>2</sub> quantification and was expected to be highly sensitive to O<sub>2</sub> as the  $\tau_0/\tau$  was ~17 times higher than that of RD3 and RB3. However, contrary to expectations, the RPPR3-based sensing layers exhibited lower sensitivity to O<sub>2</sub> than the RD3 and RB3-based sensing layers. Probably, once the indicator dye is immobilized, the relative orientation of the two chromophores impedes the equilibrium between the two triplet excited states (<sup>3</sup>MLCT and <sup>3</sup>IL), and therefore, the lifetime extension. In essence, the Ru(II) complex loses its outstanding O<sub>2</sub> sensing properties shown in solution. A response plot of the RPPR3 immobilized in S5130 solid support is depicted in Figure 4.



**Figure 4.** RPPR3/S5130 luminescent O<sub>2</sub> sensor response plot (blue solid line) in the 0–30 ppmv O<sub>2</sub> concentration range (red solid line).

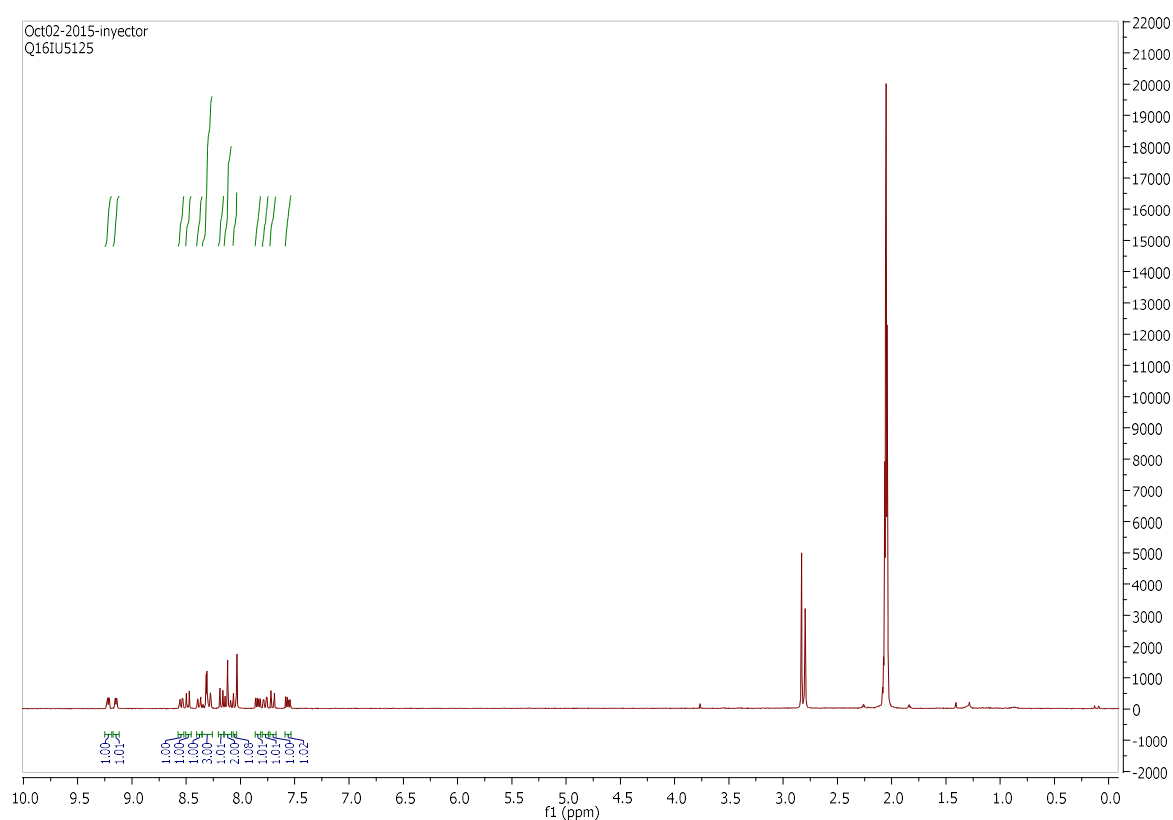
#### 4.4. Conclusions

Ru(II) polypyridyl complexes with a covalently attached pyrenyl group exhibit longer luminescence lifetimes (in solution) than the normal Ru(II) polypyridyls. The lifetime extension

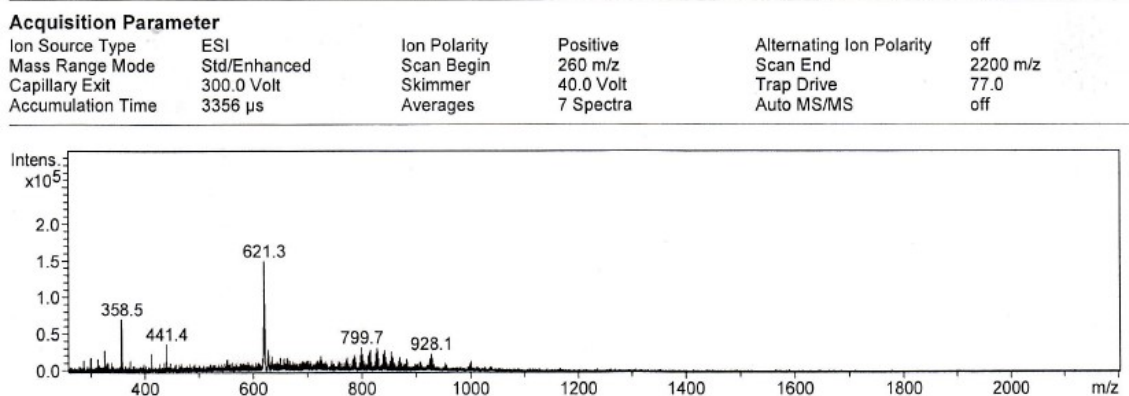
depends on the relative energy of the  $^3\text{MLCT}$  and  $^3\text{IL}$  excited states, the nature of the covalent bridge connecting both units and the relative orientation of the two chromophores. Although, these Ru(II) complexes are promising indicator dyes in the development of trace  $\text{O}_2$  optical sensors, the studies carried out in some polymer films, did not show the expected results. New solid supports are being explored, trying to improve the sensitivity of the RPPR3-based sensing layers.

## 4.5. Supplementary material

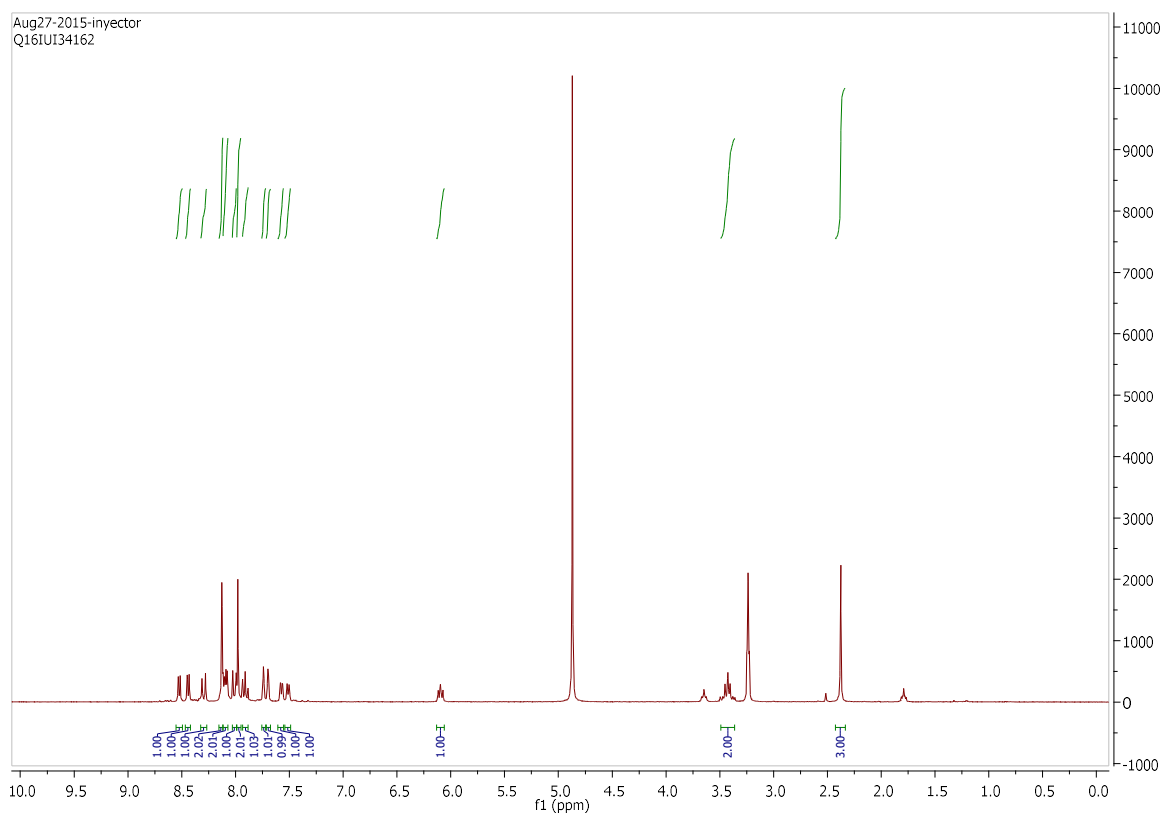
### 4.5.1. Luminescence probes characterization



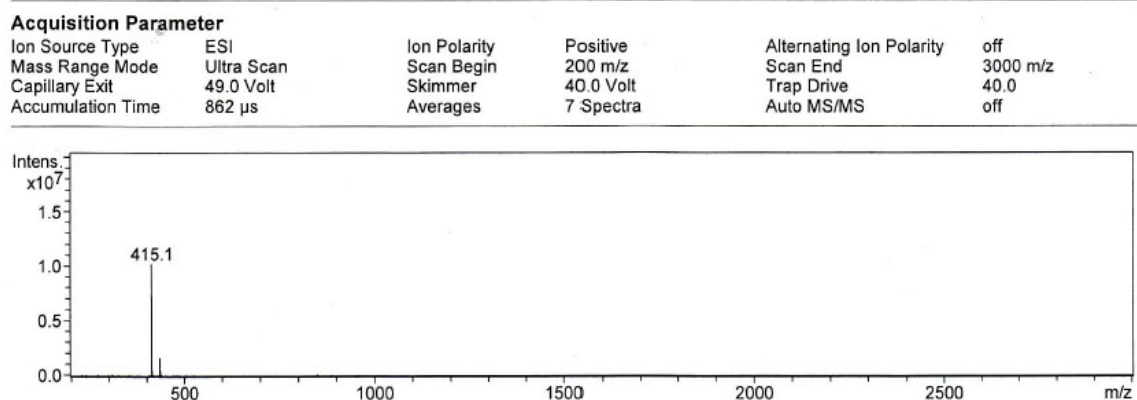
**Figure S1.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of PPR (in acetone- $d_6$ ).



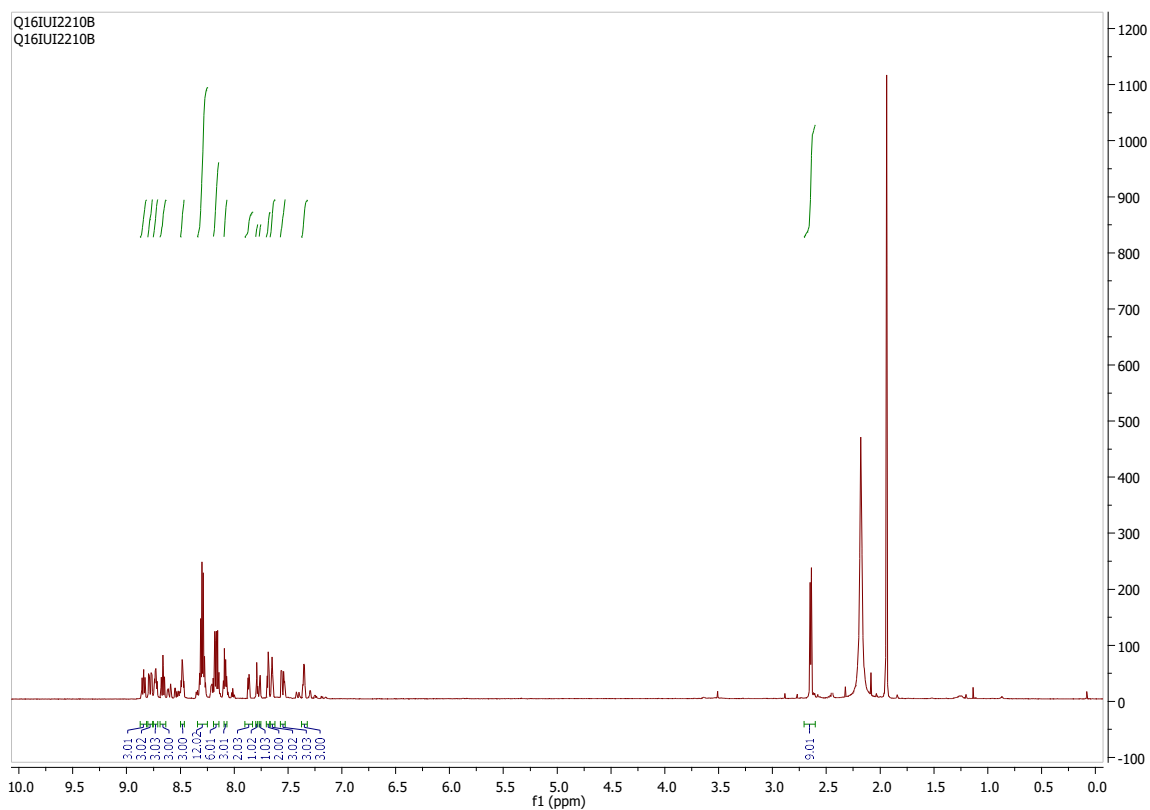
**Figure S2.** Mass spectrum of  $[\text{Ru}(\text{PPR})_3]^{2+}$  recorded by electrospray ionization in positive detection mode;  $m/z$ :  $[\text{M}]^{2+}$  calcd. for  $[\text{C}_{84}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{Ru}]^{2+}$  621.15, found 621.3.



**Figure S3.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of BOPR (in  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

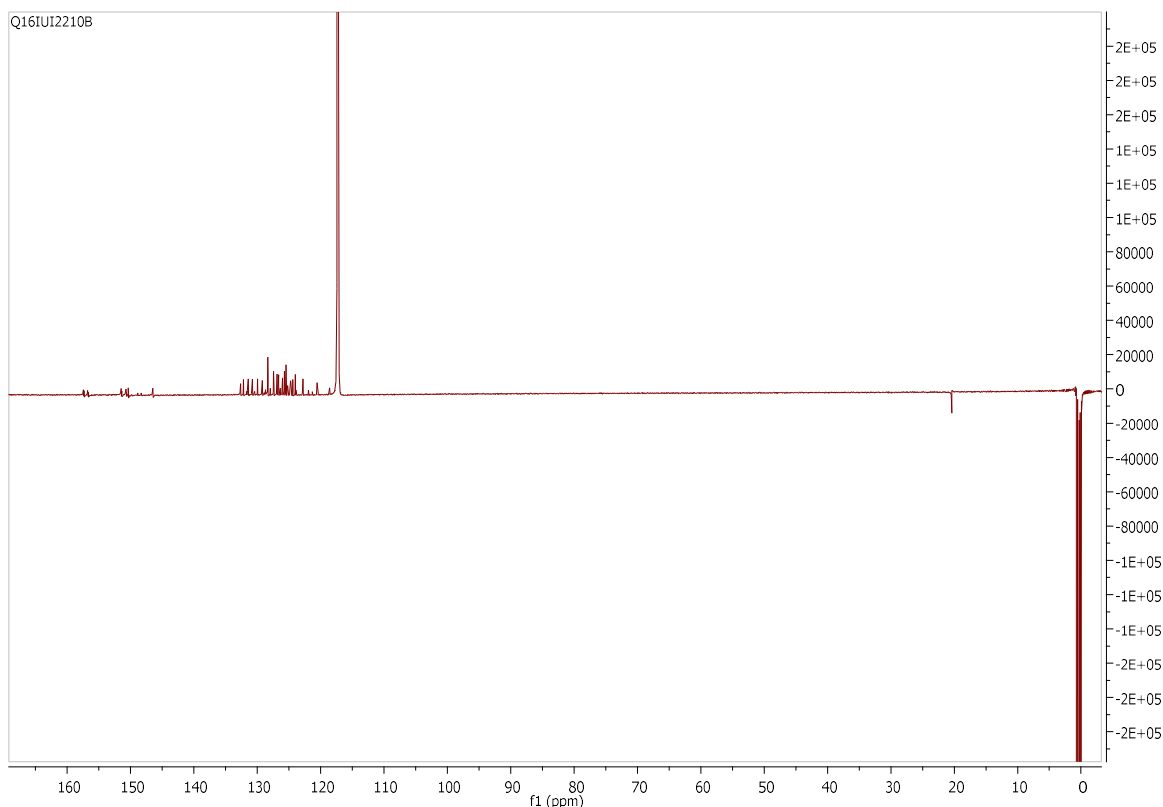


**Figure S4.** Mass spectrum of BOPR recorded by electrospray ionization in positive detection mode; m/z: calcd. for  $[\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}]^+$  415.18, found 415.1.

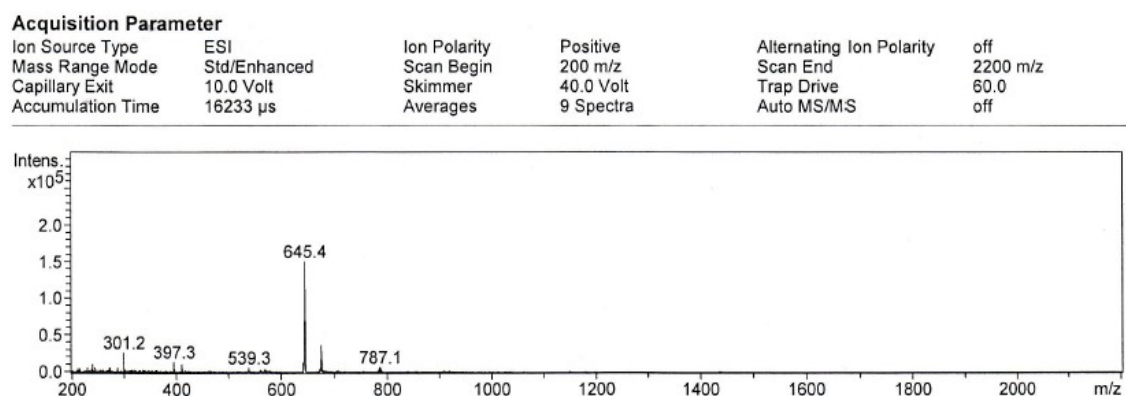


**Figure S5.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $[\text{Ru}(\text{BSPR})_3]^{2+}$  (in  $\text{CD}_3\text{CN}$ ).





**Figure S6.**  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of  $[\text{Ru}(\text{BSPR})_3]^{2+}$  (in  $\text{CD}_3\text{CN}$ ).



**Figure S7.** Mass spectrum of  $[\text{Ru}(\text{BSPR})_3]^{2+}$  recorded by electrospray ionization in positive detection mode; m/z:  $[\text{M}]^{2+}$  calcd. for  $[\text{C}_{87}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{Ru}]^{2+}$  645.7, found 645.4.

## Acknowledgements

This work has been funded by Naturgy Energy Group (formerly Gas Natural Fenosa Engineering, Madrid, Spain) within the Smart Green Gas project granted in part by the CDTI “CIEN” program (ref. IDI-20141349), co-financed by the European Regional Development Fund. The collaboration of Inés Conde, Piedad Martínez, Carmen Guinea and John Chamberlain

(Naturgy), and of Raul Cano and Pilar Icaran (FCC Aqualia, Madrid, Spain) for the field testing of the sensors is greatly acknowledged. Funding from the above mentioned sources is gratefully acknowledged.

## References

- [1] Wolfbeis, O.; Narayanaswamy, R. *Optical sensors: industrial, environmental and diagnosis applications*; Springer-Verlag: Berlin-Heidelberg, 2004.
- [2] Hempel, A.; O'Sullivan, M.G.; Papkovsky, D.B.; Kerry, J.P. Nondestructive and continuous monitoring of oxygen levels in modified atmosphere packaged ready-to-eat mixed salad products using optical oxygen sensors, and its effects on sensory and microbiological counts during storage. *J. Food Sci.* **2013**, *78*, 1057–1062.
- [3] Wang, X.; Wolfbeis, O.S. Optical methods for sensing and imaging of oxygen: materials, spectroscopies and applications, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 3666–3761.
- [4] Papkovsky, D.B.; Dmitriev, R.I. *Quenched-phosphorescence detection of molecular oxygen: applications in life sciences*; RSC Detection Sciences: London, 2018.
- [5] Urriza-Arsuaga, I.; Ielasi, G.; Bedoya, M.; Orellana, G. Luminescence-based sensors for bioprocess applications. In *Fluorescence in industry*; Pedras, B., Ed.; Springer Ser. on Fluorescence: Berlin, 2019; pp 1–38.
- [6] Orellana G, Fluorescence-based sensors. In *Optical chemical sensors*; Baldini, F., Chester, A.N., Homola, J., Martellucci, S., Ed.; NATO Sci. Ser. II, Vol. 224, Springer-Kluwer: Amsterdam, 2006, pp. 99–116.
- [7] Valeur, B.; Berberan-Santos, M.N. *Molecular fluorescence, principles and applications*, 2nd ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012.
- [8] Orellana, G.; Moreno-Bondi, M.C.; Garcia-Fresnadillo, D.; Marazuela, M.D. The interplay of indicator, support and analyte in optical sensor layers. In *Frontiers in chemical sensors*; Orellana, G., Moreno-Bondi, M.C., Ed.; Springer Ser. Chem. Sens. Biosens.: Berlin, 2005; pp 189–225.
- [9] Ji, S.; Wu, W.; Wu, W.; Song, P.; Han, K.; Wang, Z.; Liu, S.; Guo, H.; Zhao, J. Tuning the luminescence of ruthenium(II) polypyridine complexes and its application in luminescent oxygen sensing. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 1953–1963.
- [10] Zhao, J.; Ji, S.; Wu, W.; Wu, W.; Guo, H.; Sun, J.; Sun, H.; Liu, Y.; Li, Q.; Huang, L. Transition metal complexes with strong absorption of visible light and long-lived triplet excited states: from molecular design to applications. *RSC Advances* **2012**, *2*, 1712–1728.
- [11] Urriza-Arsuaga, I.; Bedoya, M.; Orellana, G. Luminescent sensor for O<sub>2</sub> detection in biomethane streams. *Sens. Actuators B: Chem.* **2019**, *279*, 458–465.

- [12] Borisov, S.M.; Lehner, P.; Klimant, I. Novel optical trace oxygen sensors based on platinum(II) and palladium(II) complexes with 5,10,15,20-*meso*-tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)-porphyrin covalently immobilized on silica-gel particles *Anal. Chim. Acta* **2011**, *690*, 108–115.
- [13] Mao, Y.; Gao, Y.; Wu, S.; Wu, S.; Shi, J.; Zhou, B.; Tian, Y. Highly enhanced sensitivity of optical oxygen sensors using microstructured PtTFPP/PDMS-pillar arrays sensing layer. *Sens. Actuators B: Chem.* **2017**, *251*, 495–502.
- [14] Lehner, L.; Staudinger, C.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Ultra-sensitive optical oxygen sensors for characterization of nearly anoxic systems. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4460.
- [15] Nagl, S.; Baleizão, C.; Borisov, S.M.; Schäferling, M.; Berberan-Santos, M.N.; Wolfbeis, O.S. Optical sensing and imaging of trace oxygen with record response. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2317–2319.
- [16] Kochmann, S.; Baleizão, C.; Berberan-Santos, M.N.; Wolfbeis, O.S. Sensing and imaging of oxygen with parts per billion limits of detection and based on the quenching of the delayed fluorescence of  $^{13}\text{C}_{70}$  fullerene in polymer hosts. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 1300–1304.
- [17] Orellana, G.; García-Fresnadillo, D. Environmental and industrial optosensing with tailored luminescent Ru(II) polypyridyl complexes. In *Optical sensors*; Narayanaswamy, R., Wolfbeis, O.S., Ed.; Springer Ser. Chem. Sens. Biosens. Vol. 1, Springer: Berlin, 2004; pp 309–357.
- [18] Bedoya, M.; Díez, M.T.; Moreno-Bondi, M.C.; Orellana, G. Humidity sensing with a luminescent Ru(II) complex and phase-sensitive detection. *Sens. Actuators B: Chem.* **2006**, *113*, 573–581.
- [19] Bustamante, N.; Ielasi, G.; Bedoya, M.; Orellana, G. Optimization of the temperature sensing with polymer-embedded luminescent Ru(II) complexes. *Polymers* **2018**, *10*, 234.
- [20] Urriza-Arsuaga, I.; Bedoya, M.; Orellana, G. Unprecedented reversible real-time luminescent sensing of  $\text{H}_2\text{S}$  in the gas phase. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 2231–2238.
- [21] Urriza-Arsuaga, I.; Bedoya, M.; Orellana, G. Tailored luminescent sensing of  $\text{NH}_3$  in biomethane productions. *Sens. Actuators B: Chem.* **2019**, *292*, 210–216.
- [22] Tyson, D.S.; Henbest, K.B.; Bialecki, J.; Castellano, F.N. Excited state processes in ruthenium(II)/pyrenyl complexes displaying extended lifetimes. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8154–8161.
- [23] Tyson, D.S.; Castellano, F.N. Intramolecular singlet and triplet energy transfer in a ruthenium(II) diamine complex containing multiple pyrenyl chromophores. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 10955–10960.
- [24] McClenaghan, N.D.; Barigelletti, F.; Maubert, B.; Campagna, S. Towards ruthenium(II) polypyridine complexes with prolonged and predetermined excited state lifetimes. *Chem. Commun.* **2002**, *0*, 603–603.

- [25] Kozlov, D.V.; Tyson, D.S.; Goze, C.; Ziessel, R.; Castellano, F.N. Room temperature phosphorescence from ruthenium(II) complexes bearing conjugated pyrenylethynylene subunits. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 6083–6092.
- [26] Cao, J.; Wu, Q.; Zheng, W.; Lic, L.; Mei, W. Microwave-assisted synthesis of polypyridyl ruthenium(II) complexes as potential tumor targeting inhibitors against the migration and invasion of Hela cells through G2/M phase arrest. *RSC Adv.* **2017**, *7*, 26625–26632.
- [27] Suzuki, K.; Kobayashi, A.; Kaneko, S.; Takehira, K.; Yoshihara, T.; Ishida, H.; Shiina, Y.; Oishi, S.; Tobita, S. Reevaluation of absolute luminescence quantum yields of standards solutions using a spectrometer with an integrating sphere and back thinned CCD detector. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 9850–9860.
- [28] Leroy-Lhez, S.; Belin, C.; D'aleo, A.; Williams, R.M.; De Cola, L.; Fages, F. Extending excited-state lifetimes by interchromophoric triplet-state equilibration in a pyrene-Ru(II)diamine Dyad system. *Supramol. Chem.* **2003**, *15*, 627–637.
- [29] Lavie-Cambot, A.; Lincheneau, C.; Cantuel, M.; Leydet, Y.; McClenaghan, N. Reversible electronic energy transfer: a means to govern excited-state properties of supramolecular systems. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 506–515.
- [30] Orellana, G.; López-Gejo, J.; Pedras, B. Silicone Films for Fiber-Optic Chemical Sensing. In *Concise Encyclopedia of High Performance Silicones*; Tiwari, A., Soucek, M.D., Ed.; Wiley-Scrivener: Beverly, 2014; pp 339–354.
- [31] Lehner, P.; Staudinger, C.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Ultra-sensitive optical oxygen sensors for characterization of nearly anoxic systems, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4460–4464.
- [32] André, P.L. *The Surface Properties of Silica*; Wiley: Chichester, 1999.



# Discusión integradora



## 1. Ingeniería molecular, diseño y síntesis de indicadores luminiscentes

Los complejos de Ru(II) poseen propiedades que los hacen muy atractivos en el desarrollo de sensores ópticos (ver Introducción).<sup>242,252</sup> Gracias a la versatilidad y rica fotoquímica de estos compuestos de coordinación, es posible preparar indicadores luminiscentes sensibles a diferentes analitos, a través del diseño “a medida” de los ligandos coordinados al centro metálico. Además, todos los miembros de la familia de complejos de coordinación de Ru(II) con ligandos heterocíclicos quelatantes, son capaces de ser estimulados por el mismo diodo LED (azul-verde) y su fotoemisión tiene lugar en la misma región espectral y con una cinética característica de dichas moléculas luminiscentes, lo que permite el empleo de un único equipo optoelectrónico para la monitorización simultánea de varios analitos (O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>).

En el marco de este proyecto de investigación, a través de la ingeniería molecular del indicador, se han diseñado una serie de complejos de Ru(II) con propiedades fotoquímicas adaptadas a la naturaleza de los analitos objetivo en biometano (O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S o NH<sub>3</sub>). Dichos indicadores luminiscentes, inmovilizados en adecuados soportes poliméricos, constituyen los terminales sensibles interrogados con un equipo optoelectrónico desarrollado en nuestros laboratorios. La intensidad y tiempo de vida de emisión de los indicadores diseñados experimenta un proceso fotoquímico de desactivación bimolecular en presencia del analito, lo que permite obtener información en tiempo real de la concentración de analito en la muestra. El diseño y síntesis de estos indicadores luminiscentes se desarrolla en los siguientes apartados.

### 1.1. Indicadores de O<sub>2</sub>

Los sensores ópticos de O<sub>2</sub> se basan en la desactivación de la luminiscencia que experimentan ciertas moléculas indicadoras, embebidas en finas películas de polímeros permeables al O<sub>2</sub>. El mecanismo fotoquímico de desactivación bimolecular por el O<sub>2</sub> del estado electrónico excitado *triplete* de mínima energía de la molécula indicadora, corresponde a un proceso de transferencia de energía. Dicho proceso fotoinducido conduce al estado fundamental del indicador y a un estado electrónico excitado de la molécula de oxígeno, denominado “oxígeno molecular singlete” (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), que rápidamente (μs) regresa a su estado fundamental (<sup>3</sup>O<sub>2</sub>):



La variación de la intensidad y tiempo de vida de luminiscencia de la molécula indicadora está directamente relacionada con la concentración de O<sub>2</sub> a través de la denominada ecuación de Stern-Volmer (E 14):<sup>274</sup>



$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + k_q \tau_0 [O_2] \quad (E 14)$$

La sensibilidad del indicador luminiscente al  $O_2$  depende de la constante de desactivación bimolecular ( $k_q$ ) y del tiempo de vida del estado excitado del indicador luminiscente en ausencia del analito ( $\tau_0$ ). Generalmente, dado que la constante de velocidad de desactivación por el  $O_2$  es próxima a la del proceso de difusión, la manera de graduar la sensibilidad del indicador luminiscente al  $O_2$  es a partir de  $\tau_0$ . Así, indicadores luminiscentes con mayores  $\tau_0$  presentarán una mayor sensibilidad al  $O_2$ .

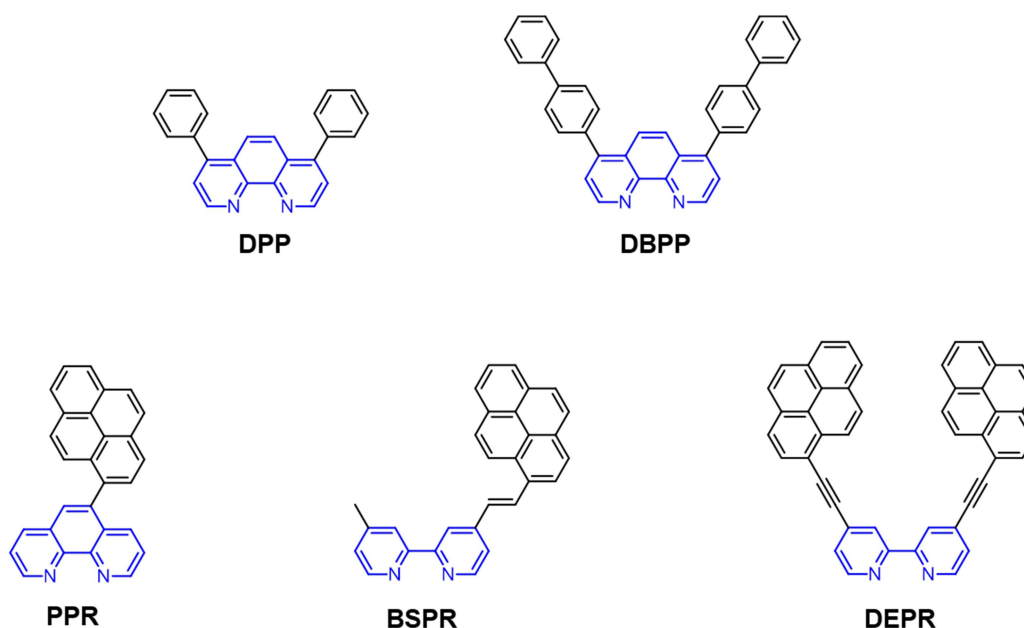
Los complejos de Ru(II) luminiscentes más comunes empleados como sensores ópticos de  $O_2$ , presentan un tiempo de vida de emisión  $\tau_0$  comprendido entre 0.1 y 5  $\mu s$ , valores que pueden ser escasos en aplicaciones donde se requiere la cuantificación de trazas de  $O_2$  (ppmv). Por ello, fue imprescindible recurrir al diseño molecular de los complejos de Ru(II), tratando de aumentar el tiempo de vida del estado electrónico excitado emisor de luz y, por consiguiente, su sensibilidad al  $O_2$ .

El diseño de los indicadores de  $O_2$  se centró en dos estrategias:

1. La introducción de ligandos poliazaaromáticos de conjugación extensa en la esfera de coordinación del Ru(II), que permita una eficaz deslocalización del electrón fotoexcitado (localizado en los ligandos por tratarse de un estado  $^3MLCT$ ) con el consiguiente aumento del tiempo de vida del estado excitado emisor ( $\tau_0$ ).

2. La incorporación al complejo de Ru(II) de un segundo grupo cromóforo, tipo pireno, a través de un enlace covalente carbono-carbono con los ligandos tipo 2,2'-bipiridina o 1,10-fenantrolina. El largo tiempo de vida del estado excitado triplete del pireno ( $^3IL$ , 200  $\mu s$ ), provocará un aumento en el tiempo de vida de emisión del complejo de Ru(II). Este hecho se debe, bien al equilibrio que se establece entre los estados excitados triplete del Ru(II) y del pireno ( $^3MLCT$  y  $^3IL$ , respectivamente), de similar energía, tras la fotoexcitación, dando lugar a un tiempo de vida de emisión promedio, entre el del  $^3IL$  del pireno (200  $\mu s$ ) y el del  $^3MLCT$  del Ru(II) (pocos  $\mu s$ ), o bien al cambio en el estado excitado emisor de mínima energía del  $^3MLCT$ , habitual en los complejos polipiridílicos de Ru(II), al estado excitado emisor del pireno ( $^3IL$ ), de mayor tiempo de vida de emisión. El tipo de enlace covalente (simple, doble o triple) de unión del pireno con los ligandos coordinados al Ru(II), determina el mecanismo por el que se produce el aumento del tiempo de vida de emisión de estos complejos de Ru(II).

Basándonos en estas dos estrategias, se diseñaron cinco complejos de Ru(II) homolépticos, tipo  $[\text{Ru}(\text{NN})_3]^{2+}$ , siendo NN los ligandos poliazaheteroaromáticos coordinados al metal (Figura 36). Se propusieron dos ligandos dotados de estructuras policíclicas de conjugación extensa (DPP y DBPP), y tres ligandos conteniendo grupos pireno (PPR, BSPR, DEPR), unidos covalentemente a los ligandos 2,2'-bipiridina o 1,10-fenantrolina por enlace sencillo (C–C), doble (C=C) o triple (C≡C).



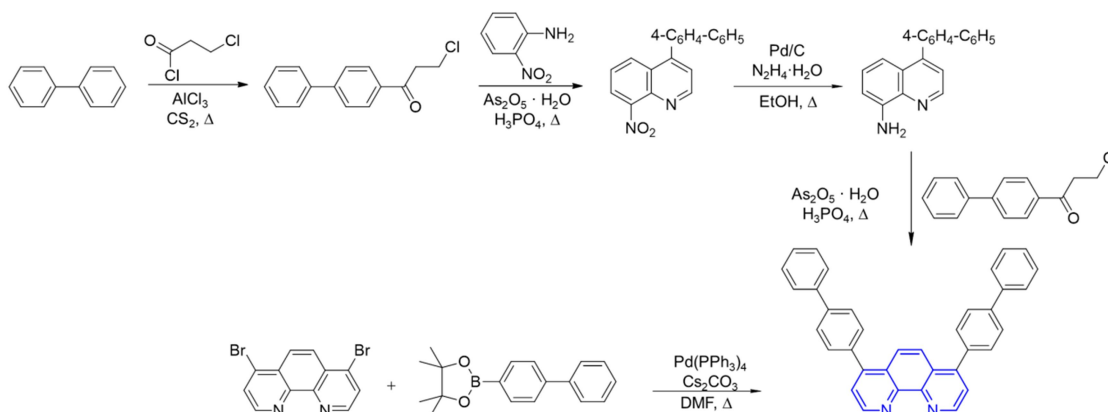
**Figura 36.** Estructura de los ligandos (NN) sintetizados en nuestros laboratorios para su incorporación a iones complejos homolépticos de tipo  $[\text{Ru}(\text{NN})_3]^{2+}$ , con el fin de obtener indicadores fosforescentes de  $\text{O}_2$  de largo tiempo de vida en su estado excitado emisor. DPP: 4,7-difenil-1,10-fenantrolina; DBPP: 4,7-bis[(1,1'-bifenil)-4-il]-1,10-fenantrolina; PPR: 5-pirenil-1,10-fenantrolina; BSPR: 4-metil-4'-[(1E)-2-piren-1-ilvinil]-2,2'-bipiridina; DEPR: 4,4'-bis(2-piren-1-iletinil)-2,2'-bipiridina.

### 1.1.1. Síntesis y obtención de los indicadores de $\text{O}_2$

Los complejos de rutenio(II)  $[\text{Ru}(\text{DPP})_3]^{2+}$ ,  $[\text{Ru}(\text{DBPP})_3]^{2+}$  y  $[\text{Ru}(\text{PPR})_3]^{2+}$  ya se habían descrito, por lo que el procedimiento de síntesis utilizado fue el bibliográfico.<sup>275-277</sup> Alternativamente, en el caso del  $[\text{Ru}(\text{DBPP})_3]^{2+}$ , se intentó llevar a cabo la síntesis del ligando DBPP en una sola etapa, a diferencia de la síntesis descrita en la bibliografía, que requiere de cuatro pasos (Figura 37).

La nueva ruta sintética propuesta se trataba de una reacción de acoplamiento tipo Suzuki entre la 4,7-dibromo-1,10-fenantrolina y el 2-(4-bifenilil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano, empleando como catalizador el tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) y, como disolvente, una mezcla de tolueno y etanol. La reacción se realizó en atmósfera inerte a 140 °C durante 25 min en un reactor de microondas, proporcionando el ligando DBPP con un bajo rendimiento (<

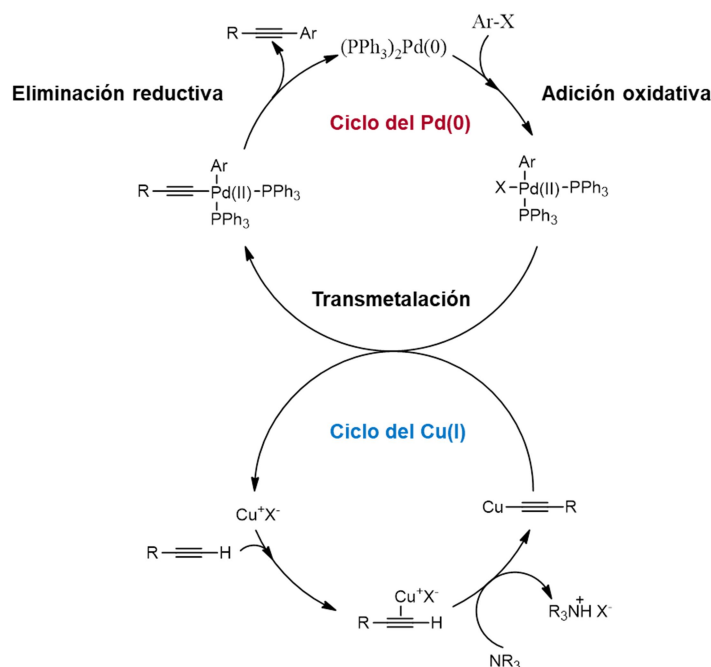
10 %) y resultando en una mezcla de compuestos que dificultó la posterior purificación. Ambas rutas sintéticas se muestran en la Figura 37.



**Figura 37.** Rutas de síntesis del ligando DBPP.

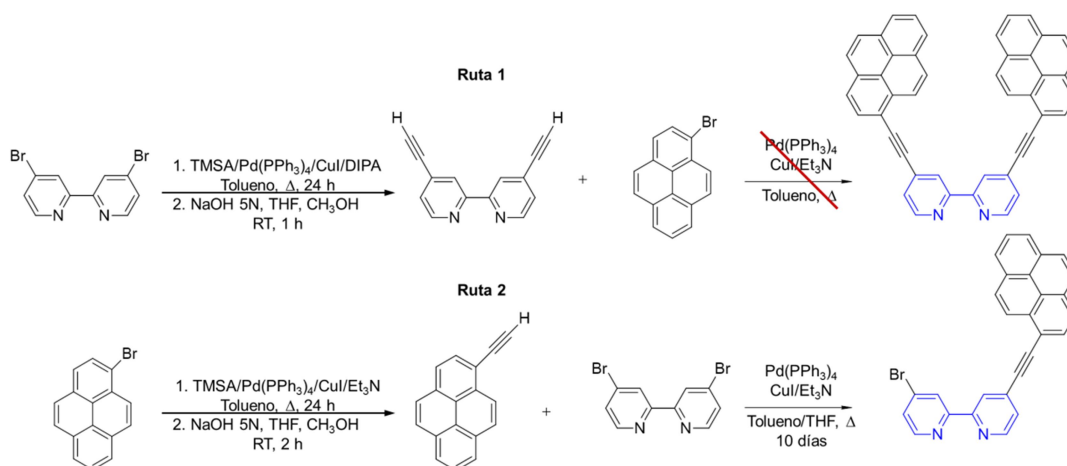
La síntesis de los complejos luminiscentes  $[\text{Ru}(\text{BSPR})_3]^{2+}$  y  $[\text{Ru}(\text{DEPR})_3]^{2+}$ , no había sido descrita en bibliografía. El  $[\text{Ru}(\text{BSPR})_3]^{2+}$  se obtuvo a partir del cloruro de rutenio(III) comercial y el ligando 4-metil-4'-[(2-hidroxi-2-piren-1-il)etil]-2,2'-bipiridina (BOPR) (preparado según bibliografía),<sup>278</sup> en etilenglicol a 195 °C, en un reactor de microondas. La formación del complejo homoléptico transcurrió en tan solo 20 min, sin necesidad de llevar a cabo una reacción previa de deshidratación del ligando BOPR. El producto rojo-anaranjado se aisló por precipitación con una disolución saturada de hexafluorofosfato amónico. La posterior purificación del complejo del exceso de ligando, mediante lavados con acetato de etilo, proporcionó el producto deseado con un alto grado de pureza, pero con un bajo rendimiento (24 %), debido al propio proceso de purificación. La estructura del nuevo ion complejo se confirmó por espectroscopía de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  y por espectrometría de masas. Las constantes de acoplamiento de las señales de RMN de  $^1\text{H}$  correspondientes a los protones del doble enlace alifático, demuestran una configuración *trans* ( $J = 16.1$  Hz).

El complejo  $[\text{Ru}(\text{DEPR})_3]^{2+}$  no pudo prepararse debido a la dificultad para obtener el ligando DEPR (4,4'-bis(2-piren-1-iletinil)-2,2'-bipiridina). La ruta sintética diseñada para la síntesis de este ligando se basó en una reacción de acoplamiento tipo Sonogashira, entre un alquino terminal ( $\text{R}-\text{C}\equiv\text{CH}$ ) y un haluro de arilo ( $\text{Ar}-\text{X}$ ), en presencia de un catalizador de paladio(0), un co-catalizador de cobre(I) y una base tipo amina.<sup>279-280</sup> El mecanismo de esta reacción está basado en dos ciclos catalíticos que coexisten, uno de los cuales corresponde al ciclo de formación de enlaces C–C catalizado por Pd(0) (Figura 38).<sup>281-282</sup>



**Figura 38.** Ciclo catalítico aceptado para explicar la reacción de acoplamiento Sonogashira.

La formación del enlace  $\text{C(sp}^2\text{)-C(sp)}$  consta de tres etapas: i) adición oxidativa del haluro de alquilo sobre el  $\text{Pd(0)}$  para dar el complejo de  $\text{Pd(II)}$ ; ii) etapa de transmetalación del acetiluro de cobre, generado en el ciclo co-catalítico del  $\text{Cu(I)}$ , para formar el acetiluro de paladio(II); iii) eliminación reductiva que da lugar al producto deseado del acoplamiento  $\text{C(sp}^2\text{)-C(sp)}$ , regenerándose la especie de  $\text{Pd(0)}$ . En el ciclo co-catalítico del  $\text{Cu(I)}$  tiene lugar una desprotonación del alquino terminal asistida por el co-catalizador, a través de la formación de un complejo  $\pi$ -alquino- $\text{Cu(I)}$ . La formación de éste aumenta la acidez del alquino terminal, acelerando la reacción de desprotonación llevada a cabo por la base, y la consiguiente formación del acetiluro de  $\text{Cu(I)}$ .



**Figura 39.** Rutas sintéticas propuestas para la síntesis del ligando DEPR.

De acuerdo con la ruta sintética propuesta, en primer lugar, se llevó a cabo la reacción de acoplamiento de Sonogashira entre la 4,4'-dietinil-2,2'-bipiridina y el bromopireno durante cinco días (Ruta 1, Figura 39). La reacción transcurrió sin la formación del producto deseado, observándose por cromatografía en capa fina la desaparición del acetileno terminal, a diferencia del bromuro de arilo que permanecía sin reaccionar. Este hecho fue confirmado por espectroscopía de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ), dada la ausencia de la señal singlete a 3.64 ppm característica del protón del alquino terminal, y la presencia de las señales aromáticas típicas del bromopireno, como un doblete a 8.32 ppm ( $J = 9.3 \text{ Hz}$ ). Probablemente, la desaparición del alquino terminal se deba a la formación del producto derivado del homoacoplamiento de Glaser (homoacoplamiento de dos alquinos terminales). La generación de este dímero tiene lugar en presencia de  $\text{Cu(I)}$  y de  $\text{O}_2$ , y con mayor rendimiento con haluros poco reactivos.<sup>283</sup> En este caso, la reacción se llevó a cabo en atmósfera inerte empleando un globo de Ar para desoxigenar la mezcla de reacción. Sin embargo, la incompleta desoxigenación de la muestra, unido a la poca reactividad del haluro de arilo empleado, posiblemente favorecieron la reacción de homoacoplamiento de alquinos.

Con el fin de evitar el subproducto del acoplamiento de Glaser, se propuso una segunda ruta sintética (Ruta 2, Figura 39). A diferencia de la ruta 1, se llevó a cabo una desoxigenación minuciosa de la mezcla de reacción mediante ciclos de vacío-argón. Por otro lado, se decidió sustituir el derivado bromado (bromopireno) tratando de emplear un haluro de arilo más reactivo y acelerar la reacción de acoplamiento cruzado. El 4,4'-dibromo-2,2'-bipiridina posee nitrógenos heterocíclicos electroattractores que aumentan su reactividad.

Después de diez días de reacción se obtuvo el derivado mono-sustituido (4-bromo-4'-[(1E)-2-piren-1-ileténil]-2,2'-bipiridina) con un rendimiento del 20 %. Dicho compuesto fue confirmado por espectroscopia de resonancia magnética nuclear  $^1\text{H}$  y espectrometría de masas. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , se identificaron las señales aromáticas del pireno, observando un aumento del desplazamiento químico (+ 0.08 ppm, de 8.59 a 8.67 ppm) del protón en posición  $\alpha$  al carbono de unión del pireno al etinilo. Además, se identificaron las seis señales correspondientes a los seis protones de la 2,2'-bipiridina del ligando monosustituido (8.76 (s), 8.71 (s), 8.76 (d), 8.57 (d), 7.65 (dd) y 7.56 (dd) ppm). En el espectro de masas (ESI positivo en  $\text{CH}_3\text{OH}$  y  $\text{HCOOH}$ ), se obtuvo la señal a 459.2 m/z con la típica distribución isotópica del bromo, correspondiente al compuesto  $\text{C}_{28}\text{H}_{16}\text{BrN}_2^+$  (m/z calculado: 459.05).

Puesto que no fue posible la síntesis del ligando di-sustituido (DEPR), no se incluyó el complejo  $[\text{Ru}(\text{DEPR})_3]^{2+}$  en posteriores estudios. El principal inconveniente de la reacción es, sin duda, la velocidad a la que transcurre. Algunas estrategias como el empleo de haluros de

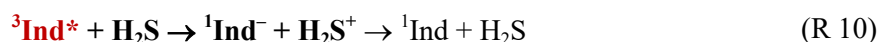
arilo más reactivos (yoduros de arilo), de otros catalizadores de paladio más activos, o de otras bases y disolventes, probablemente permitirían acelerar la reacción.

Con el objetivo de simplificar el nombre de los indicadores luminiscentes de O<sub>2</sub>, los iones complejos de Ru(II) [Ru(DPP)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>, [Ru(DBPP)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>, [Ru(PPR)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> y [Ru(BSPR)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> se nombrarán de aquí en adelante como RD3, RB3, RPPR3 y RBSPR3.

## 1.2. Indicadores de H<sub>2</sub>S

Los sensores luminiscentes de H<sub>2</sub>S desarrollados hasta el momento se basaban en sondas fluorescentes que reaccionaban de forma irreversible con el H<sub>2</sub>S, con la consiguiente activación o desactivación de su luminiscencia (“turn-on” y “turn-off”).<sup>138</sup>

Con nuestro objetivo de desarrollar un sensor luminiscente reversible de H<sub>2</sub>S y dado el carácter reductor de este analito, se decidió diseñar complejos polipiridílicos de Ru(II) de marcado carácter **fotooxidante**, de tal forma que la desactivación del estado excitado de estos complejos tuviera lugar por interacción reversible con el H<sub>2</sub>S, a través de un proceso de *transferencia electrónica fotoinducida* (PET). Dicho proceso fotoinducido conducirá al estado fundamental del indicador reducido y al compuesto de azufre mono-oxidado, con la consiguiente rápida retro-transferencia electrónica entre ambas especies:



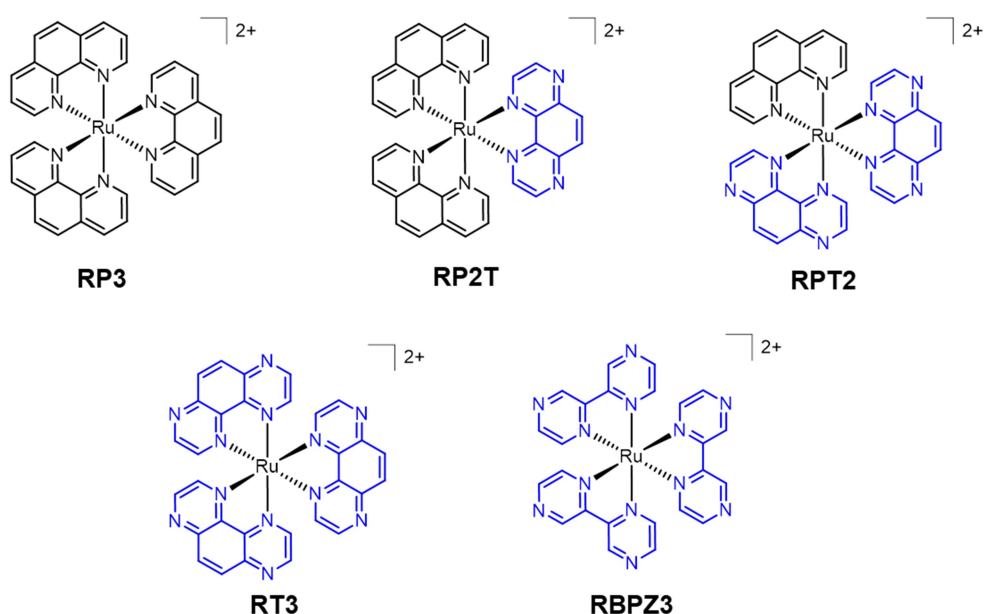
La eficiencia del proceso de desactivación de la luminiscencia del indicador por PET es directamente proporcional a la concentración del analito en la muestra, lo que permitirá calibrar el sensor. Así, la variación de la intensidad y el tiempo de vida de luminiscencia del indicador posibilita determinar la concentración de H<sub>2</sub>S en la muestra, gracias a la ecuación de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q\tau_0[\text{Q}] = 1 + k_q\tau_0[\text{H}_2\text{S}] \quad (\text{E } 15)$$

La sensibilidad del indicador luminiscente al H<sub>2</sub>S depende fuertemente de la constante de desactivación bimolecular ( $k_q$ ). Así, aquellos complejos de Ru(II) con mayores potenciales de reducción mostrarán una mayor sensibilidad al H<sub>2</sub>S, al proporcionar constantes de desactivación de la luminiscencia por PET superiores.

El carácter fuertemente fotooxidante de los complejos de Ru(II) con ligandos fuertemente electroattractores, como el 1,4,5,8-tetraazafenantreno (T) o la 2,2'-bipirazina (BPZ), había sido descrito en la bibliografía.<sup>260,284</sup> El potencial redox del estado excitado de estos complejos es del orden de 0.7 V superior al de los análogos que contienen exclusivamente ligandos 1,10-fenantrolina.<sup>265</sup>

Así, para el desarrollo del sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S, se prepararon cinco complejos de Ru(II) con uno o más ligandos de carácter fuertemente electroattractor como posibles indicadores fotooxidantes (Figura 40).



**Figura 40.** Estructura química de los iones complejos de Ru(II) luminiscentes propuestos para el desarrollo del sensor de H<sub>2</sub>S. RP3: tris(1,10-fenantrolina)rutenio(II); RP2T: [bis(1,10-fenantrolina)(1,4,5,8-tetraazafenantreno)]rutenio(II); RPT2: [(1,10-fenantrolina)bis(1,4,5,8-tetraazafenantreno)]rutenio(II); RT3: tris(1,4,5,8-tetraazafenantreno)rutenio(II); RBPZ3: tris(2,2'-bipirazina)rutenio(II).

### 1.2.1. Síntesis y obtención de los indicadores de H<sub>2</sub>S

Los complejos homolépticos de rutenio(II) RP3, RT3 y RBPZ3 fueron sintetizados según el procedimiento descrito en la bibliografía, a partir del RuCl<sub>3</sub> y los correspondientes ligandos comerciales (1,10-fenantrolina, 1,4,5,8-tetraazafenantreno o 2,2'-bipirazina).<sup>285-287</sup>

Los complejos heterolépticos RP2T y RPT2 se prepararon a partir de los bisquelatocomplejos Ru(P)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> o Ru(T)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y el correspondiente ligando comercial (1,4,5,8-tetraazafenantreno o 1,10-fenantrolina), siguiendo el procedimiento de síntesis ya descrito.<sup>288</sup>

La estructura de todos los complejos de Ru(II) fue confirmada por espectroscopía de resonancia magnética de  $^1\text{H}$  y por espectrometría de masas.

### 1.3. Indicadores de $\text{NH}_3$

Dado el carácter básico del  $\text{NH}_3$ , se diseñaron complejos de Ru(II) con ligandos poliazaaromáticos quelatantes dotados de, al menos, un ligando quelatante con un grupo dador de protones. La interacción ácido-base entre analito y complejo de Ru(II) producirá una variación en la intensidad y tiempo de vida de emisión del indicador, cuya magnitud es proporcional a la concentración de  $\text{NH}_3$  (E 16).

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [\text{Q}] = 1 + k_q \tau_0 [\text{NH}_3] \quad (\text{E } 16)$$

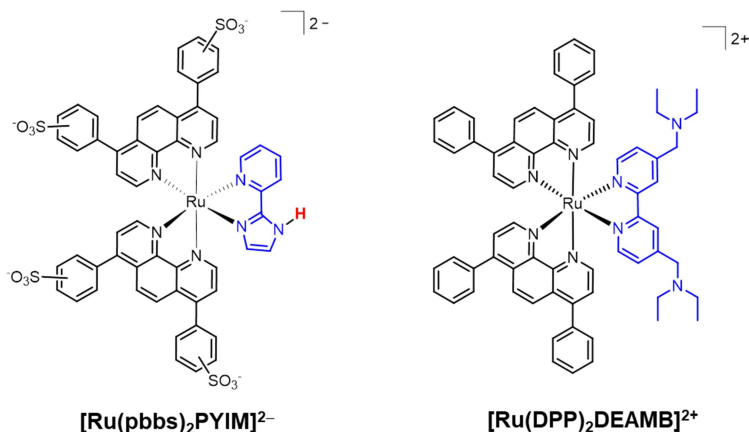
La posterior retro-transferencia del protón desde el ion amonio generado, al indicador, permite que el sensor pueda operar de forma reversible:



El proceso de transferencia de protón entre indicador y analito en el estado excitado puede ser rápido o lento. En el primer caso, se establece un equilibrio ácido-base en el estado excitado, debiendo observar un solo tiempo de vida de emisión que varía en función de la concentración de la especie básica. Por el contrario, en el caso de un intercambio lento del protón (o inexistente), no se establece dicho equilibrio en el estado excitado y lo que se observa son dos tiempos de vida de emisión, que se mantienen constantes, pero cuya contribución varía con la relación de concentraciones de las especies básica y ácida en estado fundamental. Lo más habitual en los complejos luminiscentes de Ru(II), es que no se establezca un equilibrio ácido-base en su estado excitado debido a los cortos tiempos de vida de emisión de la forma ácido o base del complejo de Ru(II) y/o, a la lenta transferencia del protón a/desde el complejo de Ru(II).<sup>270</sup> Un tercer escenario contempla la existencia de una transferencia protónica irreversible en el estado excitado del complejo de Ru(II), sin posibilidad del proceso inverso debido al corto tiempo de vida de la forma excitada ácida/básica conjugada.<sup>271</sup> En este caso, se observará un comportamiento Stern-Volmer con el verdadero dador/aceptor de  $\text{H}^+$  al estado excitado emisor del luminóforo (en disolución el principal dador/aceptor es, habitualmente, el regulador de pH, dada su importante concentración en el medio).



Los complejos de Ru(II) con ligandos heterocíclicos dotados de átomos de nitrógeno dadores de protones no involucrados en la quelatación al Ru(II), o ligandos tipo 1,10-fenantrolina o 2,2'-bipiridina sustituidos en sus posiciones periféricas por grupos dadores o aceptores de protones (hidroxi, carboxi, amida o amino), presentan un comportamiento ácido-base. La protonación/desprotonación del indicador produce un cambio en sus propiedades fotofísicas (espectro de absorción y emisión, intensidad y tiempo de vida de luminiscencia).<sup>270,289</sup>



**Figura 41.** Estructura química de los iones complejos de Ru(II) luminiscentes propuestos para el desarrollo del sensor de NH<sub>3</sub>. Na<sub>2</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>PYIM]<sup>2-</sup>: Disodio {bis[(1,10-fenantrolina-4,7-diil)bis(bencenosulfonato)][2-(2'-piridil)imidazol]}rutenio(II); [Ru(DPP)<sub>2</sub>DEAMB]Cl<sub>2</sub>: {bis(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)[4,4'-bis((dietilamino)metil)-2,2'-bipiridina]}rutenio(II) dicloruro.

Para el desarrollo del sensor de NH<sub>3</sub> en biometano se diseñaron y prepararon tres complejos de Ru(II) heterolépticos (Figura 41) con un ligando dotado de uno o dos grupos dadores de protones, como el 2-(2'-piridil)imidazol (PYIM) y la 4,4'-bis((dietilamino)metil)-2,2'-bipiridina (DEAMB), y dos ligandos auxiliares, 4,7-difenil-1,10-fenantrolina (DPP) o 1,10-fenantrolina-4,7-diil)bis(bencenosulfonato) (pbbs). El empleo de ligandos auxiliares tipo pbbs, de conjugación extendida, compensa la escasa emisión que caracteriza a los complejos de Ru(II) con ligandos imidazol,<sup>290</sup> aumentando el tiempo de vida de emisión del indicador.

### 1.3.1. Síntesis y obtención de los indicadores de NH<sub>3</sub>

Tanto los ligandos (PYIM<sup>285</sup> y DEAMB<sup>289</sup>) como los complejos heterolépticos de Ru(II) Na<sub>2</sub>[Ru(pbbs)<sub>2</sub>PYIM]<sup>270</sup> y [Ru(DPP)<sub>2</sub>DEAMB]Cl<sub>2</sub><sup>291</sup> ya habían sido sintetizados previamente en nuestro grupo, por lo que se prepararon siguiendo los procedimientos descritos en la bibliografía.

## 2. Desarrollo de los sensores luminiscentes

El desarrollo de un sensor luminiscente conlleva a la obtención de una película sensora, constituida por una molécula indicadora inmovilizada en un soporte polimérico, que responda al analito con unas características analíticas (sensibilidad, selectividad, límite de cuantificación, tiempos de respuesta y recuperación, estabilidad, etc.) adecuadas a las necesidades y requerimientos de la aplicación del sensor. Este proceso atraviesa varias etapas de estudio y caracterización, que permiten la selección y optimización de la mejor combinación molécula indicadora/soporte.

Una vez diseñados y preparados los indicadores luminiscentes para el desarrollo del sensor, se lleva a cabo una caracterización espectroscópica y fotoquímica de los mismos en disolución. Este estudio permite determinar parámetros espectroscópicos como las longitudes de onda del máximo de absorción y de emisión, así como predecir qué indicadores presentarán una mayor sensibilidad al analito.

Posteriormente, se lleva a cabo la inmovilización de los indicadores luminiscentes en distintos materiales poliméricos, orgánicos e inorgánicos, por adsorción, unión electrostática (si se trata de un indicador con carga neta), o enlace covalente (indicadores con grupos funcionales en los ligandos, tipo grupos sulfonato). La selección del material polimérico es tan importante como la selección del indicador luminiscente, ya que además de servir de soporte al indicador influye notablemente en las características y comportamiento del sensor. El soporte polimérico aporta selectividad al sensor, siendo permeable al analito de interés y evitando el acceso de otras especies potencialmente interferentes; impide la interferencia de la luz ambiental; aumenta la eficiencia de la desactivación del indicador fotoexcitado por el analito, gracias a la reducción de la dimensionalidad; protege mecánicamente el extremo sensible; y proporciona fotoestabilidad al indicador, aumentando la durabilidad del sensor.<sup>68</sup>

Por último, la caracterización espectroscópica, fotoquímica y analítica de las membranas sensoras permite seleccionar la mejor combinación molécula indicadora/soporte polimérico para la aplicación del sensor.

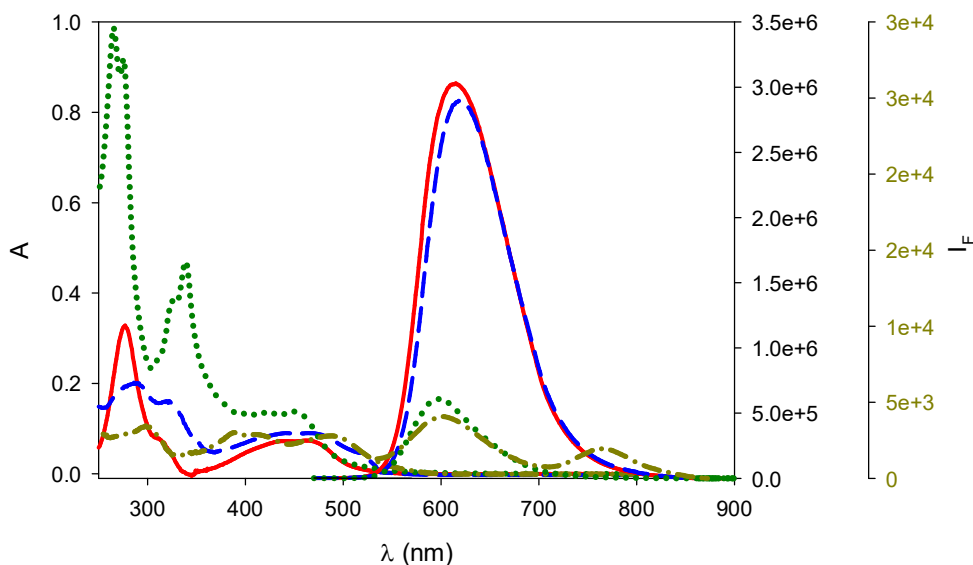
A continuación, se discuten los resultados obtenidos en el desarrollo de los sensores luminiscentes de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$  y la selección de las mejores combinaciones molécula indicadora/soporte para cada tipo de sensor.

## 2.1. Sensor para la monitorización de O<sub>2</sub> en biometano

### 2.1.1. Caracterización espectroscópica y fotoquímica de los indicadores de O<sub>2</sub>

La caracterización espectroscópica y fotoquímica de los cuatro indicadores de O<sub>2</sub> preparados se llevó a cabo en acetonitrilo. Los resultados obtenidos están recogidos en la Tabla 10. Los espectros de absorción y emisión de los cuatro complejos de Ru(II) se muestran en la Figura 42.

Como parte de la familia de los complejos de Ru(II) estos indicadores presentan una banda ancha de absorción en la región visible del espectro electromagnético (449–500 nm), que se corresponde con la transición  $d-\pi^*$  de transferencia de carga del metal al ligando (MLCT), y las intensas bandas de absorción en la región UV (265–295 nm), asignadas a las transiciones  $\pi-\pi^*$  centradas en el ligando (LC). Los complejos de Ru(II) cuyos ligandos contienen grupos pireno, presentan dos bandas LC, la típica de los complejos de Ru(II) centrada en los ligandos 1,10-fenantrolina o 2,2'-bipiridina no sustituidos, y la banda LC centrada en el pireno (340–390 nm).



**Figura 42.** Espectros de absorción UV-VIS y emisión de luminiscencia de los complejos RD3 (—), RB3 (---), RPPR3 (.....) y RBSPR3 (— · —) a  $(25 \pm 2)$  °C, en disoluciones de acetonitrilo. Espectros de emisión en N<sub>2</sub> ( $\lambda_{\text{exc}} = 460$  nm).

Los espectros de emisión de los complejos RD3, RB3 y RPPR3, muestran una banda de emisión en el rojo, característica de la desactivación del estado excitado triplete <sup>3</sup>MLCT en los complejos de Ru(II). A diferencia de estos indicadores, el RBSPR3 muestra, además de la banda de emisión a 612 nm asignada al estado excitado <sup>3</sup>MLCT, una segunda banda a 763 nm asignada al estado excitado emisor <sup>3</sup>IL, muy sensible al O<sub>2</sub>, ya que solo se observa cuando la disolución está desoxigenada.

Los rendimientos cuánticos de emisión ( $\Phi_{em}$ ) de los complejos RD3 y RB3 ( $\sim 0.4$  en  $N_2$ ) son muy superiores a los rendimientos cuánticos de emisión de los complejos de Ru(II) con grupos pireno, RPPR3 (0.053 en  $N_2$ ) y RBSPR3 (0.00018 en  $N_2$ ), siendo en este último indicador extremadamente bajo. En los complejos de Ru(II), el  $\Phi_{em}$  depende del tipo de ligandos poliazaaromáticos quelatantes. Posiblemente, en el caso de los complejos de Ru(II) con grupos pireno, el bajo  $\Phi_{em}$  esté relacionado con la existencia de dos estados excitados tripletes y la eficiencia de la transferencia de energía entre ambos estados excitados. En el caso del RBSPR3, la presencia de dos estados excitados emisores indica la ausencia de un equilibrio y de una eficaz transferencia de energía entre ambos estados excitados ( $^3MLCT$  y  $^3IL$ ), lo que impide la repoblación del estado excitado emisor  $^3MLCT$ , disminuyendo notablemente el rendimiento cuántico de emisión.<sup>292</sup>

**Tabla 10.** Resultados de la caracterización espectroscópica y fotoquímica de los cuatro indicadores de  $O_2$  en acetonitrilo.

	$\lambda_{abs}^{max}$ (nm) <sup>a</sup>	$\lambda_{em}^{max}$ (nm) <sup>a</sup>	$\tau^{b,d}$ (μs)	$\tau_0^{c,d}$ (μs)	$\Phi^{b,e} \times 10^2$	$\Phi^{c,e} \times 10^2$	$\tau_0/\tau$
<b>RD3</b>	462 277	618	$0.179 \pm 0.002$	$5.4 \pm 0.2$	$1.4 \pm 0.1$	$40.4 \pm 0.5$	30
<b>RB3</b>	463 289	619	$0.207 \pm 0.002$	$6.8 \pm 0.1$	$1.41 \pm 0.06$	$43 \pm 1$	32
<b>RPPR3</b>	449 340 265	598	$0.279 \pm 0.003$	$148 \pm 8.5^f$	$0.026 \pm 0.004$	$5.3 \pm 0.7$	530
<b>RBSPR3</b>	488 390 295	612 763	$0.172 \pm 0.002$ (94 %) $0.57 \pm 0.02$ (6 %)	$0.80 \pm 0.02$ (67 %) $6.4 \pm 0.1$ (33 %)	$0.012 \pm 0.001$	$0.018 \pm 0.001$	13

<sup>a</sup> Incertidumbre  $\pm 1$  nm. <sup>b</sup> En aire. <sup>c</sup> En  $N_2$ . <sup>d</sup> Tiempo de vida de emisión ( $\tau$ ) ( $\lambda_{exc} = 463$  nm;  $\lambda_{em} = 610$  nm) medido por SPT,  $n = 4$ . <sup>e</sup> Rendimiento cuántico de emisión ( $\Phi$ ) ( $\lambda_{exc} = 460$  nm),  $n = 4$ . A  $25 \pm 2$  °C y presión atmosférica de 698–713 Torr. Intervalos de confianza  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 4$ . <sup>f</sup> Ref. 277.

En cuanto a los tiempos de vida de emisión ( $\tau$ ) de los cuatro indicadores, cabría esperar mayores valores de  $\tau_0$  en los complejos RPPR3 y RBSPR3, gracias al equilibrio establecido entre los estados excitados tripletes del pireno ( $^3IL$ ) y del complejo de Ru(II) ( $^3MLCT$ ), de similar energía y multiplicidad. El tiempo de vida de emisión del RPPR3 resultó ser elevadísimo (148 μs en  $N_2$ ) en comparación con los complejos de Ru(II) más tradicionales (0.1–5 μs en  $N_2$ ). Sin embargo, no se obtuvo el mismo resultado con el complejo de Ru(II) RBSPR3. Probablemente, en el caso de este indicador, al no establecerse un equilibrio entre ambos estados excitados triplete, no se produce una transferencia de energía entre ambos estados y no

tiene lugar el aumento del tiempo de vida del indicador como en el caso anterior. La ausencia del equilibrio entre los estados  $^3\text{MLCT}$  y  $^3\text{IL}$  puede atribuirse a una diferencia de energía significativa entre ambos estados, al tipo de conexión entre ambos cromóforos (doble enlace en lugar de enlace sencillo) o a su orientación relativa.<sup>293</sup> En el espectro de emisión del RBSPR3 se observan dos estados excitados emisores, cada uno de ellos con su tiempo de vida de emisión (0.8 y 6.4  $\mu\text{s}$  en  $\text{N}_2$ ).

Entre los complejos de Ru(II) con ligandos poliazaaromáticos quelatantes, dotados de estructuras policíclicas de conjugación extensa, el RB3 presenta un tiempo de vida de emisión superior al RD3. Tal y como se esperaba, la conjugación  $\pi$  más extensa en los ligandos DBPP con respecto a los ligandos DPP proporciona una deslocalización más efectiva del electrón excitado, con el consiguiente aumento del tiempo de vida de emisión.

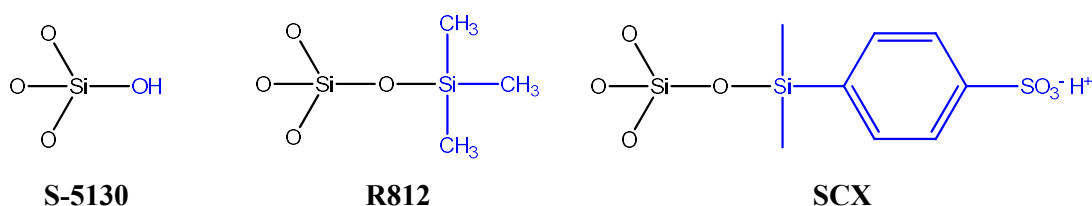
La sensibilidad de los cuatro indicadores al  $\text{O}_2$  fue evaluada a partir de los tiempos de vida de emisión de los complejos de Ru(II) en  $\text{N}_2$  y en aire ( $\tau_0/\tau$ ). De acuerdo a la ecuación de Stern-Volmer (E 14), cuánto mayor sea  $\tau_0/\tau$ , mayor es la sensibilidad del indicador al  $\text{O}_2$ . Como cabía esperar el indicador RPPR3 mostró una sensibilidad muy superior al resto de indicadores con un valor de  $\tau_0/\tau$  de 530. Los indicadores RD3 y RB3 mostraron una alta sensibilidad, pero inferior al RPPR3, con valores de  $\tau_0/\tau$  de 30 y 32, respectivamente. Por último, el indicador RBSPR3 mostró una sensibilidad muy inferior al resto de indicadores, probablemente atribuida a su compleja fotoquímica.

A partir de los resultados obtenidos de la caracterización espectroscópica y fotoquímica de los cuatro indicadores luminiscentes de  $\text{O}_2$ , se decidió descartar el indicador RBSPR3 por su baja sensibilidad al  $\text{O}_2$  y sus bajos rendimientos cuánticos de emisión. Con los otros tres indicadores luminiscentes se procedió a la preparación de membranas sensoras y al estudio de las mismas como sensores de  $\text{O}_2$ .

### 2.1.2. Membranas sensoras de $\text{O}_2$

Antes de comenzar con la inmovilización de los indicadores luminiscentes, se procedió a la selección de soportes poliméricos que proporcionaran una alta sensibilidad al sensor, dados los bajos niveles de  $\text{O}_2$  a determinar en el biometano ( $< 10$  ppmv), y una buena estabilidad, que le permitiera al sensor operar *in situ* y en continuo durante el máximo tiempo posible. De esta forma, se seleccionaron una serie de materiales poliméricos de elevada permeabilidad al  $\text{O}_2$  y robustez para lograr los objetivos propuestos.

Los soportes inorgánicos tipo sílice son sólidos muy adsorbentes y químicamente inertes.<sup>294</sup> La co-adsorción del indicador y del analito en las partículas potencia la desactivación del complejo de Ru(II) fotoexcitado por colisión con el O<sub>2</sub>, gracias a la concentración local de ambas especies y al efecto de la dimensionalidad reducida.<sup>68</sup> La rápida difusión de los gases a través de los poros del gel de sílice proporciona tiempos de respuesta y recuperación cortos. Para la preparación de las membranas sensoras se emplearon tres tipos de soportes tipo sílice de diferente polaridad y tamaño de partícula: gel de sílice pirogénica hidrofílica (S-5130, 0.007 µm), gel de sílice pirogénica hidrofóbica tratada con hexametildisilazano (R812, 40 µm) y gel de sílice funcionalizada con grupos ácido bencenosulfónico (SCX, 50 µm) (ver Figura 43).



**Figura 43.** Representación estructural de los soportes tipo sílice empleados en la fabricación de membranas sensoras de O<sub>2</sub>.

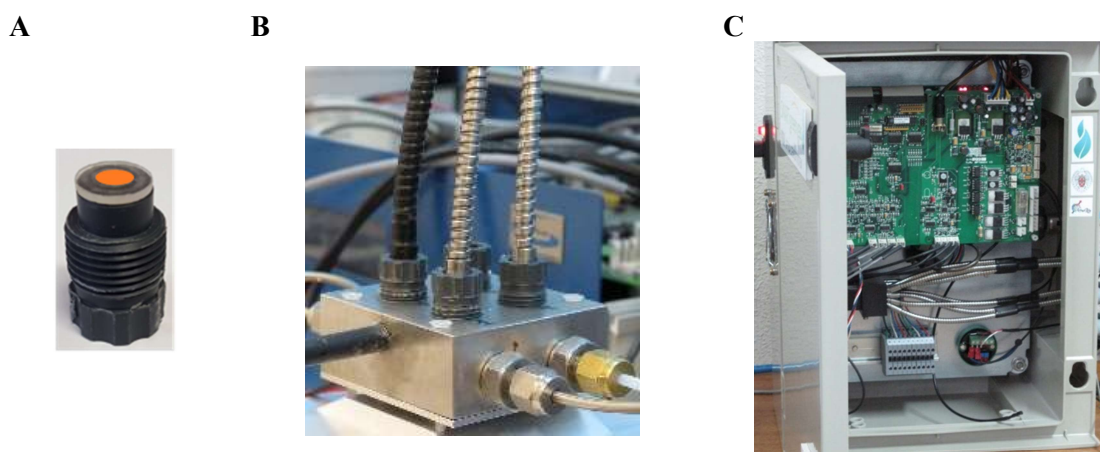
Por otro lado, se utilizó como soporte sólido la silicona (polidimetilsiloxano), un polímero orgánico hidrofóbico de elevada permeabilidad, muy empleado como soporte sólido en el desarrollo de sensores de O<sub>2</sub>.<sup>71</sup> En la preparación de las películas sensoras de O<sub>2</sub> se emplearon films de silicona Dow Corning 3140 con un 10 % en peso de gel de sílice pirogénica S-5130 (DC3140). Dada la hidrofobicidad de la silicona, la incorporación de gel de sílice hidrofílica permite aumentar la solubilidad tanto de la molécula indicadora como del O<sub>2</sub>.<sup>73</sup> Por último, se prepararon membranas sensoras de politetrafluoroetileno (PTFE), un polímero orgánico polifluorado muy permeable al O<sub>2</sub> y muy empleado también en el desarrollo de sensores ópticos de O<sub>2</sub>.<sup>67</sup> Concretamente se emplearon unos discos comerciales de PTFE con partículas de sílice C18 (Empore C18).



**Figura 44.** Membranas sensoras de O<sub>2</sub> preparadas en nuestro laboratorio, mediante la inmovilización de los indicadores luminiscentes en los distintos materiales poliméricos. De izquierda a derecha: RD3/S-5130; RD3/S-5130 formato pastilla; RD3/R812; RPPR3/DC3140; RPPR3/Empore C18.

Los indicadores de O<sub>2</sub> fueron inmovilizados por adsorción o unión electrostática en los distintos soportes. Las membranas sensoras (Figura 44) resultantes fueron instaladas en una celda de medida de acero inoxidable (Figura 45), del equipo optoelectrónico fabricado en nuestro laboratorio para su instalación en la planta de producción de biometano (“OSA Optical

Sensor System”). La celda de medida consta de cuatro canales, lo que permite instalar al mismo tiempo cuatro membranas sensoras. El comportamiento de los terminales sensibles (sensibilidad, estabilidad, tiempos de respuesta) fueron evaluados a partir de la variación de la señal analítica, el desfase de luminiscencia ( $\phi$ ), en ausencia y en presencia de concentraciones variables de  $O_2$  (0–30 ppmv). A la variación del  $\phi$  en un intervalo de concentración de  $O_2$  se le denomina excursión de desfase de luminiscencia ( $\Delta\phi = \phi_0 - \phi_{[O_2]}$ ). Los resultados están recogidos en la Tabla 11.



**Figura 45.** A) Terminal sensible donde se coloca la membrana sensora de  $O_2$ . B) Celda de medida de acero inoxidable que consta de cuatro canales conectados al equipo optoelectrónico a través de fibras ópticas. C) Equipo optoelectrónico “OSA Optical Sensor System” fabricado en nuestro laboratorio.

Las membranas más sensibles al  $O_2$  se obtuvieron de la combinación de los indicadores RD3 y RB3, y los soportes poliméricos tipo sílice S-5130 y SCX, observándose una sensibilidad ligeramente superior en el caso del indicador DBPP. Las membranas sensoras fabricadas con polímeros orgánicos, como la silicona o el empore C18, no presentaron sensibilidad suficiente para la determinación de concentraciones tan bajas de  $O_2$ . La escasa relación señal/ruido en las membranas de silicona, en relación con el recorrido de la señal ( $\Delta\phi$ ), impidió la obtención de valores de  $\Delta\phi$ .

**Tabla 11.** Desfase de luminiscencia en ausencia de  $O_2$  ( $\phi_0$ ) y sensibilidad de las membranas sensoras de  $O_2$ , en términos de excursión de desfase de luminiscencia, en el intervalo de concentración de 0–30 ppmv ( $\Delta\phi_{0-30}$ ).

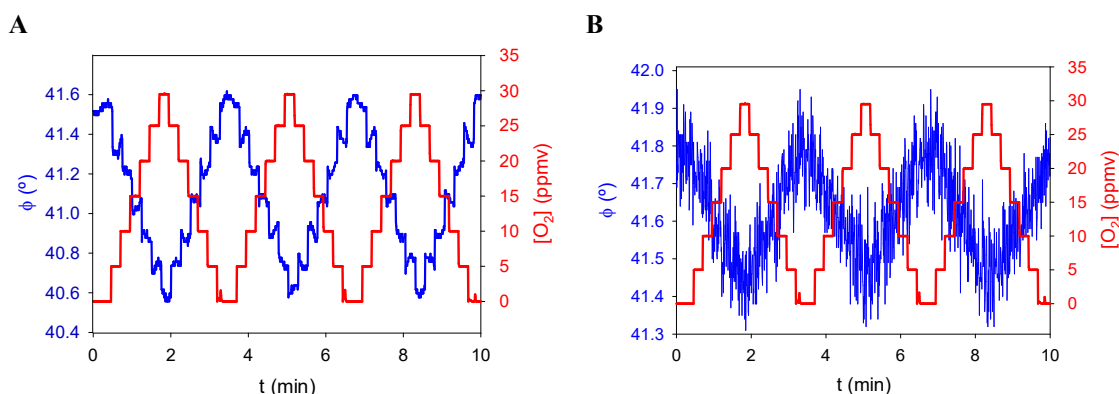
	S-5130		R812		SCX		DC3140		Empore C18	
	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$	$\phi_0^{a,b}$	$\Delta\phi_{0-30}^{a,c}$
<b>RD3</b>	41.60	1.01	46.99	0.91	48.63	1.03	50.65	~ 0	53.96	0.16
<b>RB3</b>	42.40	1.09	47.67	0.85	48.21	1.09	50.48	~ 0	55.60	0.12
<b>RPPR3</b>	41.88	0.52	26.33	0.45	19.77	0.40	3.80	~ 0	53.27	0.27

<sup>a</sup> Incertidumbre:  $< \pm 0.04^\circ$  para RD3 y RB3 y  $< \pm 0.1^\circ$  para RPPR3. <sup>b</sup> Desfase de luminiscencia de la membrana sensora en ausencia de  $O_2$ . <sup>c</sup> Excursión de desfase de luminiscencia para el intervalo de concentración de 0–30 ppmv de  $O_2$ . Medidas realizadas a  $15.0 \pm 0.2^\circ C$ .



El indicador RPPR3, que en disolución mostró una elevadísima sensibilidad al  $O_2$ , con un  $\tau_0/\tau$  de 530, al ser inmovilizado en los distintos soportes manifestó una sensibilidad muy inferior a la esperada. Probablemente, la inmovilización del indicador en los soportes sólidos modifique la orientación relativa de los dos cromóforos, influyendo negativamente en la transferencia de energía entre los dos estados electrónicos excitados tripletes ( $^3MLCT$  y  $^3IL$ ) y, por tanto, anulando el aumento del tiempo de vida de emisión del indicador y su sensibilidad al  $O_2$ . Además, la respuesta del sensor RPPR3/S-5130 al  $O_2$  mostró valores elevados de señal/ruido, en comparación con las membranas sensoras de los indicadores RD3 y RB3 (Figura 46). Los escasos estudios publicados con este tipo de complejos de Ru(II) con grupos pireno, inmovilizados en soportes sólidos no muestran tampoco la sensibilidad esperada de los estudios en disolución.<sup>295</sup>

Los tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) de todas las membranas sensoras de  $O_2$  evaluadas fueron menores de 30 s, siendo éste el tiempo que tarda el equipo en medir la concentración de  $O_2$  en cada canal.



**Figura 46.** Respuesta de las membranas sensoras de  $O_2$  en el intervalo de concentración de 0–30 ppmv. A) RD3/S-5130; B) RPPR3/S-5130.

En vista de los resultados obtenidos, se decidió seleccionar las membranas sensoras de  $O_2$  de mayor sensibilidad, fabricadas a partir de la inmovilización de los indicadores RD3 y RB3 en los soportes inorgánicos de tipo sílice. La posterior caracterización espectroscópica y fotoquímica de estos materiales luminiscentes sensores permitió estudiar el efecto del soporte sólido en las características espectrales y en la sensibilidad al  $O_2$  del indicador. Se registraron los espectros de emisión y los tiempos de vida de emisión en un espectrómetro de fotoluminiscencia, en ausencia de analito ( $N_2$  puro) y en 153.2 ppmv de  $O_2$  (Tabla 12).

En todas las membranas sensoras, las curvas de extinción de la emisión obtenidas presentaron una cinética complicada que se ajustaba a una función triexponencial. Los tres tiempos de vida de emisión no se deben a la existencia de tres especies luminiscentes de



diferente naturaleza, sino a la microheterogeneidad del soporte. La localización del indicador en diferentes entornos o microdominios del soporte, cada uno de ellos con diferente accesibilidad al O<sub>2</sub> y con diferente interacción con el indicador fotoexcitado, provoca la existencia de distintas poblaciones de indicador, cada una de ellas con una cinética de extinción de la emisión propia.<sup>73</sup>

**Tabla 12.** Caracterización espectroscópica y fotoquímica de los materiales luminiscentes sensores de O<sub>2</sub>.

		$\lambda_{em}^{max}$ (nm) <sup>a</sup>	$\tau_m^0$ ( $\mu$ s) <sup>b,c</sup>	$\tau_m$ ( $\mu$ s) <sup>b,d</sup>	$\tau_m^0/\tau_m$ <sup>e</sup>	$k_q$ (ppmv <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) <sup>e,f</sup>
	S-5130	617	6.82 ± 0.02	6.19 ± 0.01	1.102 (0.002)	97.6 (0.2)
<b>RD3</b>	SCX	610	7.61 ± 0.03	6.98 ± 0.02	1.090 (0.003)	77.2 (0.2)
	R812	617	8.18 ± 0.01	7.61 ± 0.03	1.075 (0.002)	59.8 (0.1)
	S-5130	626	7.63 ± 0.02	6.81 ± 0.03	1.120 (0.003)	102.7 (0.3)
<b>RB3</b>	SCX	618	8.02 ± 0.02	7.23 ± 0.03	1.109 (0.003)	88.7 (0.3)
	R812	627	10.07 ± 0.02	9.46 ± 0.04	1.064 (0.003)	41.5 (0.1)

<sup>a</sup> Incertidumbre: ± 1 nm. <sup>b</sup> Tiempo de vida de emisión ponderado pre-exponencialmente ( $\tau_m$ ), a (25.0 ± 0.1) °C. Intervalos de confianza  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%),  $n = 3$ . <sup>c</sup> En N<sub>2</sub> puro, 99.9999%. <sup>d</sup> En 153.2 ppmv O<sub>2</sub>. <sup>e</sup> Los valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar de las medidas ( $s_{n-1}$ ). <sup>f</sup> Constante de desactivación bimolecular ( $k_q$ ) calculado a partir de la ecuación de Stern-Volmer ( $\tau_m^0/\tau_m = 1 + k_q[O_2]$ ).

El soporte sólido empleado en la fabricación de las membranas sensoras influye directamente en la longitud de onda del máximo de emisión del indicador, en su tiempo de vida de emisión y en la sensibilidad del indicador al O<sub>2</sub> (Tabla 12). Tal y como se ha descrito en bibliografía, cuanto más polar es el entorno mayor es el tiempo de vida de emisión del indicador.<sup>296</sup> La existencia de agregados del indicador en los entornos más apolares, favorecidos por la poca solubilidad de la molécula indicadora, origina la disminución del tiempo de vida de emisión. En nuestro caso, los resultados obtenidos mostraron lo contrario. Los tiempos de vida de emisión del RD3 y RB3 era mayores en el soporte hidrofóbico R812, que en el soporte hidrofílico S-5130 (Tabla 12). La naturaleza más hidrofóbica de estos indicadores en comparación con otros complejos de Ru(II), como el tris(2,2'-bipiridil)rutenio(II), probablemente reduzca la formación de agregados en este soporte y la consiguiente disminución en los tiempos de vida de emisión.

Con respecto a la sensibilidad al O<sub>2</sub>, las membranas sensoras preparadas con el soporte sólido S-5130 resultaron ser las más sensibles al analito (mayores constantes de desactivación bimolecular,  $k_q$ ), a diferencia del gel de sílice R812, que proporcionó los peores resultados. Las membranas de SCX mostraron una buena sensibilidad al O<sub>2</sub> pero ligeramente inferior a las membranas de S-5130. La mayor solubilidad del O<sub>2</sub> en la gel de sílice hidrofílica, junto a la elevada área superficial de estas partículas ( $390 \pm 40$  m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), dado su tamaño nanométrico, explicaría la mayor sensibilidad de estas membranas sensoras.

A la hora de seleccionar los mejores sensores de  $O_2$  para su posterior calibración analítica y su aplicación en la monitorización de  $O_2$  en biometano, únicamente se tuvo en cuenta la sensibilidad, ya que el tiempo de respuesta y recuperación era idéntico para todas ellas. Por tanto, se descartaron las membranas preparadas con el soporte R812 y se seleccionaron como mejores membranas sensoras aquellas basadas en el soporte S-5130, para su posterior instalación en la planta de generación de biometano. Los materiales luminiscentes sensores RD3/SCX y RB3/SCX no fueron descartados por completo y se mantuvieron como segunda opción.

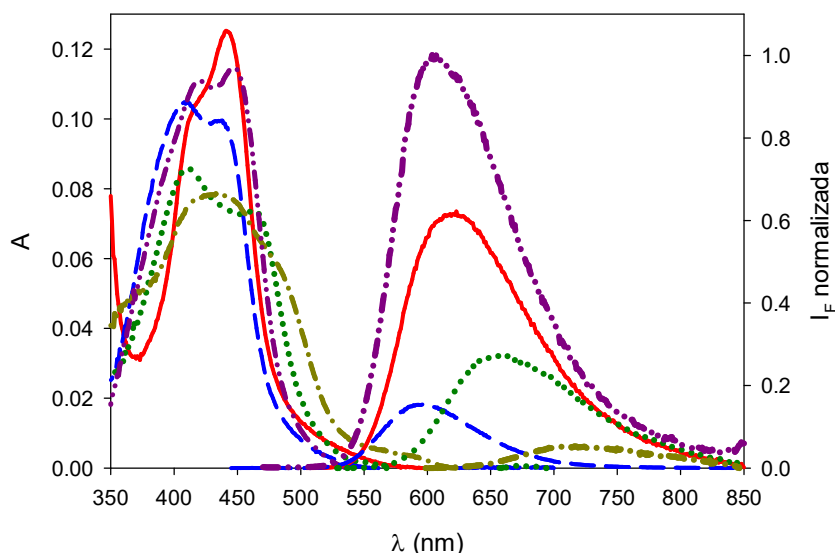
Antes de comenzar con la caracterización analítica de los materiales luminiscentes sensores seleccionados, se optimizó la cantidad de indicador inmovilizado por gramo de soporte inorgánico S-5130 y SCX. Mientras que una alta concentración del indicador en el soporte conduce a la formación de agregados y a un aumento de la autodesactivación del estado excitado del complejo de Ru(II), una baja concentración de indicador puede generar señales de luminiscencia de baja relación señal/ruido. La concentración óptima para los materiales luminiscentes sensores fue de 2 mg de RB3 por gramo de soporte y de 1.2 mg de RD3 por gramo de soporte.

## 2.2. Sensor para la monitorización de $H_2S$ en biometano

### 2.2.1. Caracterización espectroscópica y fotoquímica de los indicadores de $H_2S$

De acuerdo al diseño molecular de los indicadores de  $H_2S$ , se prepararon cinco complejos de Ru(II) con ligandos de carácter fuertemente electroattractor. La caracterización espectroscópica y fotoquímica de estos indicadores se llevó a cabo en disolución acuosa de tampón fosfato pH 10 (Tabla 13).

Los espectros de absorción de estos complejos de Ru(II) muestran dos máximos en la región visible (400–470 nm) del espectro electromagnético, correspondientes a la transición  $d \rightarrow \pi^*$ , de transferencia de carga del metal al ligando (MLCT) (Figura 47). En los espectros de emisión de los indicadores se observa una intensa banda de emisión en el rojo (600–720 nm) asignada a la desactivación del estado excitado  $^3MLCT$  (Figura 47). Los tiempos de vida de emisión de los indicadores de  $H_2S$  son lo suficientemente cortos para reducir su desactivación por el  $O_2$  (presente en el biometano en concentraciones típicas de  $\lesssim 300$  ppmv), y al mismo tiempo lo suficientemente largos para posibilitar la medida cinética de su fosforescencia con los mismos componentes electrónicos (Tabla 13).



**Figura 47.** Espectros de absorción UV-VIS y emisión de luminiscencia de los complejos RBPZ3 (—), RT3 (---), RPT2 (.....), RP2T (— · —) y RP3 (---) a  $(25.0 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$ , en disoluciones de acuosas de tampón fosfato (0.05 M, pH 10). Espectros de emisión en aire ( $\lambda_{\text{exc}} = 450 \text{ nm}$ ).

**Tabla 13.** Resultados de la caracterización espectroscópica y fotoquímica de los indicadores de  $\text{H}_2\text{S}$ .

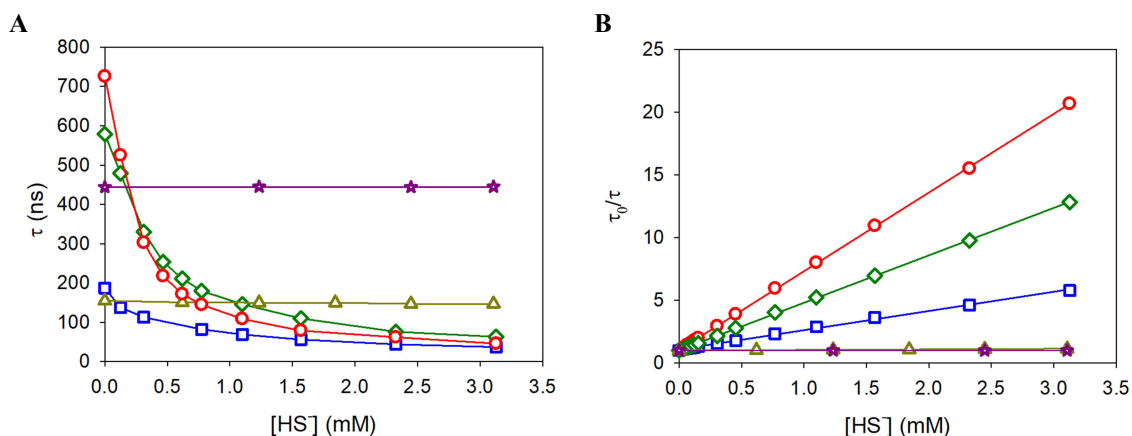
	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}} (\text{nm})^{\text{a}}$	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}} (\text{nm})^{\text{a}}$	$\tau_0 (\text{ns})^{\text{b}}$	$K_{\text{SV}} (\text{M}^{-1})^{\text{c}}$	$k_q \times 10^9 (\text{M}^{-1} \text{s}^{-1})^{\text{c}}$	$E^{(2+*/+)^{\text{d}}}$
<b>RBPZ3</b>	424	620	$745 \pm 3$	6280 (20)	8.43 (0.04)	+ 1.45
	443					
<b>RT3</b>	408	606	$185 \pm 2$	1630 (8)	8.81 (0.09)	+ 1.30
	437					
<b>RPT2</b>	413	658	$655 \pm 3$	3766 (3)	5.75 (0.01)	+ 1.15
	465					
<b>RP2T</b>	436	718	$169 \pm 1$	43 (1)	0.26 (0.01)	+ 0.88
<b>RP3</b>	420	606	$444 \pm 1$	< 0.03	< 0.0007	+ 0.71
	447					

<sup>a</sup> Incertidumbre  $\pm 1 \text{ nm}$ . <sup>b</sup> Tiempo de vida de emisión ( $\tau$ ) de los indicadores de  $\text{H}_2\text{S}$  medidos por SPT ( $\lambda_{\text{exc}} = 463 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = \lambda_{\text{em max}} (\text{nm})$  de cada indicador) en 0 M  $\text{HS}^-$ . Intervalos de confianza  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%),  $n = 3$ . <sup>c</sup> Constante de Stern-Volmer ( $K_{\text{SV}} = k_q \tau_0$ ) y constante de desactivación bimolecular ( $k_q$ ) obtenidas de las representaciones lineales de  $\tau_0/\tau$  vs  $[\text{HS}^-]$ ; Los valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar de las medidas ( $S_{n-1}$ ). <sup>d</sup> Potenciales de reducción del estado excitado frente al electrodo de referencia SCE en acetonitrilo. 260,262,264

Una vez determinadas las principales características fotofísicas y espectroscópicas se procedió al estudio de la sensibilidad de los cinco indicadores al  $\text{H}_2\text{S}$  en disolución. Para ello se estudió la variación del tiempo de vida de emisión de los cinco complejos de Ru(II) en función de la concentración de  $\text{HS}^-$  (0–3.1 mM) (Figura 48). A partir de las representaciones de Stern-Volmer obtenidas ( $\tau_0/\tau$  vs.  $[\text{HS}^-]$ ) se determinaron las constantes de Stern-Volmer ( $K_{\text{SV}}$ ) y las constantes de desactivación bimolecular ( $k_q$ ) para cada indicador de  $\text{H}_2\text{S}$  (Tabla 13). De acuerdo a la ecuación de Stern-Volmer (E 15), cuanto mayor sea  $k_q$  mayor será la sensibilidad del

indicador al  $\text{H}_2\text{S}$ . De los resultados obtenidos, se observó que al aumentar el número de ligandos de carácter electroatractor (T o BPZ) en el complejo de Ru(II), aumentaba la constante de desactivación bimolecular y el potencial de reducción del indicador (Tabla 13). El fuerte carácter electroatractor de estos ligandos en comparación con los ligandos 1,10-fenantrolina, hace que estos complejos de Ru(II) sean lo suficientemente oxidantes en su estado excitado como para aceptar un electrón del  $\text{HS}^-$  y reducirse de forma reversible. De hecho, la luminiscencia del complejo de Ru(II) con tres ligandos 1,10-fenantrolina (RP3) no se vio desactivada ni en presencia de concentraciones superiores de  $\text{HS}^-$  (78 mM), ya que el potencial redox de éste sea probablemente menor al del  $\text{HS}^-$  ( $E^{(\text{HS}^\bullet/\text{HS}^-)} = +0.91 \text{ V/SCE}$  en agua).<sup>297</sup> A diferencia del RP3, el indicador RP2T aunque no mostró prácticamente sensibilidad en el intervalo de concentración 0–3.1 mM, sí respondió a concentraciones superiores de  $\text{HS}^-$  (0–78 mM).

Sin embargo, la sensibilidad del indicador, en términos de constante de Stern-Volmer ( $K_{\text{SV}} = k_q \tau_0$ ), no sólo depende de la constante de desactivación bimolecular, y por tanto, del potencial de reducción, sino que también depende del tiempo de vida de emisión del indicador en ausencia de analito ( $\tau_0$ ). Por ello, el complejo de Ru(II) RPT2 resultó ser más sensible al  $\text{HS}^-$  que el RT3, a pesar de que este último presentara un potencial de reducción superior (Figura 48).



**Figura 48.** A) Respuesta de los indicadores ( $\tau$ ) al  $\text{HS}^-$  (0–3.1 mM) en disolución acuosa de tampón fosfato (0.05 M, pH 10.0), a  $(25.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ . B) Representaciones de Stern-Volmer ( $\tau_0/\tau$  vs.  $[\text{HS}^-]$ ) obtenidas de la variación del tiempo de vida de emisión con la concentración de  $\text{HS}^-$ . RBPZ3 (○), RT3 (□), RPT2 (◇), RP2T (△) y RP3 (\*).

### 2.2.2. Membranas sensoras de $\text{H}_2\text{S}$

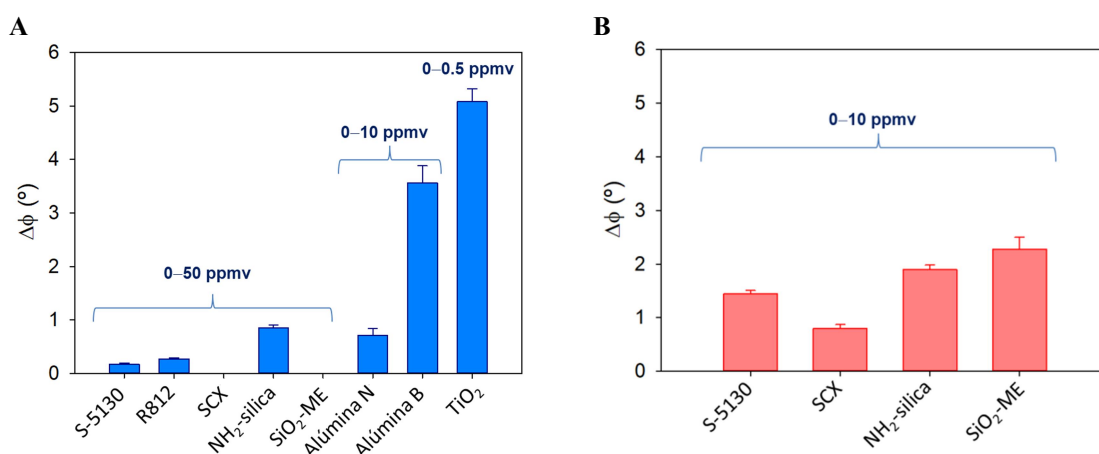
Para la inmovilización de los indicadores luminiscentes de  $\text{H}_2\text{S}$  se seleccionaron una serie de soportes poliméricos que proporcionaran una alta sensibilidad al sensor, necesaria para determinar las bajas concentraciones de  $\text{H}_2\text{S}$  en el biometano ( $\leq 5 \text{ mg m}^{-3}$ , equivalente a 3

ppmv), y una adecuada estabilidad para su futura aplicación en la monitorización de este gas *in situ* y en continuo en un planta de producción de biometano.

Con este objetivo se optó por soportes inorgánicos adsorbentes tratando de potenciar la desactivación del complejo de Ru(II) inmovilizado por el H<sub>2</sub>S, gracias a la mayor probabilidad de encuentro entre indicador y analito, por la concentración local de ambos y la dimensionalidad reducida del espacio de desactivación.<sup>68</sup>

Para la preparación de las membranas sensoras se emplearon soportes tipo sílice de diferente polaridad y tamaño de partícula: gel de sílice hidrofílica (S-5130, 0.007  $\mu\text{m}$ ), gel de sílice hidrofóbica (R812, 40  $\mu\text{m}$ ), gel de sílice funcionalizada con grupos ácido bencenosulfónico (SCX, 50  $\mu\text{m}$ ), gel de sílice funcionalizada con grupos amino (NH<sub>2</sub>-sílice, 40–75  $\mu\text{m}$ ) y microesferas de sílice (SiO<sub>2</sub>-ME, 40–75  $\mu\text{m}$ ). Además se emplearon otros soportes como el óxido de aluminio neutro (N) y básico (B), y el óxido de titanio(IV) (TiO<sub>2</sub>, forma anatasa).

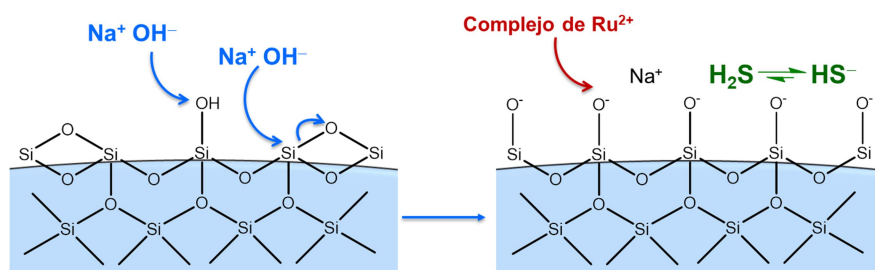
Las membranas sensoras se obtuvieron a partir de la inmovilización del indicador RPT2 en los distintos soportes sólidos. Los materiales luminiscentes sensores preparados se instalaron en una celda de medida de cloruro de polivinilo (PVC) del equipo optoelectrónico “OSA Optical Sensor System” (Figura 45), y su sensibilidad al H<sub>2</sub>S fue evaluada en términos de variación del desfase de luminiscencia para un intervalo de concentración de H<sub>2</sub>S dado ( $\Delta\phi = \phi_0 - \phi_{[\text{H}_2\text{S}]}$ ). Los resultados se muestran en la Figura 49.



**Figura 49.** A) Sensibilidad, en términos de excursión de desfase de luminiscencia ( $\Delta\phi = \phi_0 - \phi_{[\text{H}_2\text{S}]}$ ), del indicador RPT2 inmovilizado en los distintos soportes inorgánicos. B) Sensibilidad del indicador RPT2 inmovilizado en los mismos soportes inorgánicos pre-tratados con NaOH. Caudal 50 mL min<sup>-1</sup>, a 23 ± 2 °C y frecuencia de modulación de 156 kHz. Intervalos de confianza  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%),  $n = 4$ .

Los primeros resultados obtenidos mostraron que la membrana sensora más sensible era la de  $\text{TiO}_2$  ( $\Delta\phi_{0.5 \text{ ppmv}} = 5.08^\circ$ ) (Figura 49A). Sin embargo, ésta tuvo que ser descartada debido a los largos tiempos de respuesta y recuperación ( $t_{90} = 129 \text{ min}$ ) de la misma, incompatibles con una monitorización de  $\text{H}_2\text{S}$  en tiempo real.

Con respecto al resto de soportes inorgánicos, la membrana sensora de alúmina básica exhibió una sensibilidad muy superior ( $\Delta\phi_{0-10 \text{ ppmv}} = 3.56^\circ$ ) al resto de sensores, incluyendo al sensor basado en alúmina neutra (Figura 49A). De esta observación se concluyó que para una mayor sensibilidad de las membranas sensoras se requería de una superficie alcalina en los soportes para la eficaz adsorción de los complejos de  $\text{Ru(II)}$  catiónicos y del analito. En vista de lo anterior, se decidió pre-tratar los soportes inorgánicos tipo sílice (S-5130, SCX,  $\text{NH}_2$ -sílica y  $\text{SiO}_2\text{-ME}$ ) con una disolución acuosa de  $\text{NaOH}$  e inmovilizar, posteriormente, los indicadores en los soportes basificados. Estas membranas sensoras resultaron ser mucho más sensibles que las membranas sensoras iniciales (Figura 49B). El tratamiento del soporte con una disolución acuosa de  $\text{NaOH}$  activa la superficie del gel de sílice gracias a la formación de grupos silanóxido ( $-\text{Si}-\text{O}^-$ ). Estos grupos cargados negativamente en la superficie del gel de sílice favorecen la inmovilización electrostática del complejo de  $\text{Ru(II)}$  cargado positivamente y la acumulación del  $\text{H}_2\text{S}$  en forma de  $\text{HS}^-$ , especie más reductora que el  $\text{H}_2\text{S}$  (Figura 50). El efecto global es una desactivación más eficaz del indicador fotoexcitado y por tanto, una mayor sensibilidad de la membrana sensora al analito.

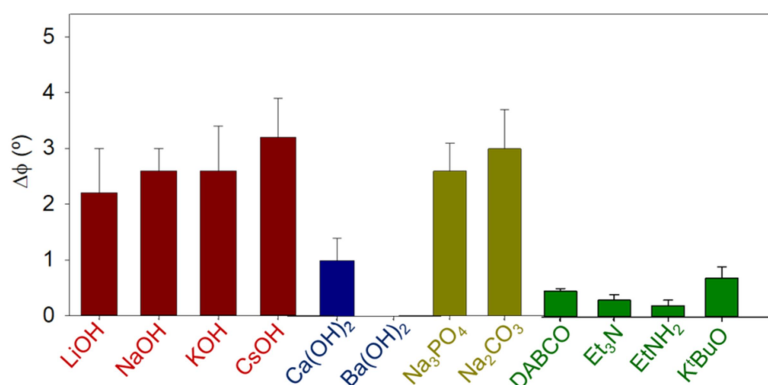


**Figura 50.** Esquema visual de la activación de la superficie del gel de sílice con una disolución acuosa de  $\text{NaOH}$ .

De los resultados obtenidos se decidió seleccionar como mejor soporte para el desarrollo del sensor de  $\text{H}_2\text{S}$  las microesferas de  $\text{SiO}_2$  pre-tratadas con  $\text{NaOH}$ . Aunque la alúmina básica exhibió una mayor sensibilidad, este soporte fue descartado debido a los mayores tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) de estas membranas en comparación con las membranas sensoras de microesferas de  $\text{SiO}_2$  (9.1 min frente a 3.9 min). Las membranas sensoras de SCX exhibieron el tiempo de respuesta más corto (1.9 min). Sin embargo, su sensibilidad era muy inferior a las membranas de microesferas de  $\text{SiO}_2$ . Las membranas de gel de sílice S-5130 y  $\text{NH}_2$ -sílice mostraron una

sensibilidad inferior y unos tiempos de respuesta superiores (9.1 y 6.6 min, respectivamente) a las membranas de microesferas de SiO<sub>2</sub>.

Con el objetivo de observar el efecto del tipo de base empleada en el tratamiento del soporte, se llevó a cabo el tratamiento de las microesferas de SiO<sub>2</sub> con distintas bases orgánicas e inorgánicas, y se evaluó la sensibilidad de las membranas sensoras resultantes en el intervalo de concentración de 0–10 ppmv (Figura 51).



**Figura 51.** Sensibilidad al H<sub>2</sub>S (0–10 ppmv) de las membranas sensoras (RPT2/SiO<sub>2</sub>-ME), empleando diferentes bases en el tratamiento del soporte. Caudal 50 mL min<sup>-1</sup>, a 23 ± 2 °C y frecuencia de modulación de 156 kHz. Intervalos de confianza  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%),  $n = 4$ .

Los mejores resultados se obtuvieron con las bases inorgánicas tipo hidróxidos, fosfatos y carbonatos alcalinos. El empleo de hidróxidos alcalinotérreos dificultaba o incluso impedía la inmovilización del indicador, como en el caso del Ba(OH)<sub>2</sub>, por lo que se descartó su uso. Por último, el tratamiento de la superficie de la sílice con bases orgánicas tipo trietilamina, etilamina, 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) o *tert*-butóxido potásico, no tuvo un gran efecto en la sensibilidad de las membranas sensoras, por lo que también fueron descartadas. Estas bases no nucleofílicas producen una activación parcial de la superficie de la sílice ya que no son capaces de abrir los puentes siloxano. Los únicos grupos silanóxidos que generan son a partir de la desprotonación de los grupos silanoles. Entre las bases inorgánicas eficaces en la activación de la superficie de la sílice se decidió emplear el NaOH para la fabricación de las membranas sensoras de H<sub>2</sub>S.

Una vez seleccionado el mejor soporte sólido para el sensor de H<sub>2</sub>S se procedió al estudio del mejor indicador. Como cabía esperar de los resultados de la sensibilidad de los indicadores en disolución, la sensibilidad de las membranas sensoras aumentaba a medida que el indicador contenía más grupos de carácter electroatractor (T o BPZ). Sin embargo, las membranas sensoras más sensibles resultaron ser la más fotolábiles, debido a la inestabilidad que confieren estos ligandos de campo débil (T o BPZ) al complejo de Ru(II), comparando con los ligandos 1,10-fenantrolina (P). La presencia de estos ligandos en la esfera de coordinación del Ru(II)

produce una disminución de la energía del estado excitado disociativo centrado en el metal  $^3\text{MC}$ , haciéndolo más accesible. Como consecuencia del paso activado por promoción térmica del estado excitado  $^3\text{MLCT}$  al  $^3\text{MC}$ , se producen reacciones de fotosustitución que comprometen seriamente la estabilidad del complejo de  $\text{Ru(II)}$ .<sup>298</sup> Teniendo en cuenta que la aplicación de los sensores en una planta de generación de biometano exige una alta estabilidad de las membranas sensoras, se seleccionó como indicador óptimo el RP2T, en un compromiso entre sensibilidad y fotoestabilidad.

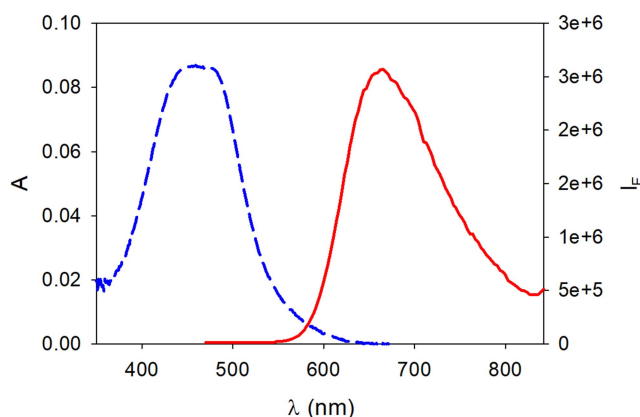
Por último, para finalizar con la optimización de la membrana sensora de  $\text{H}_2\text{S}$  se evaluó el efecto de la concentración de indicador y de base en la respuesta de la membrana sensora al analito, en busca de las condiciones que confieran una mayor sensibilidad al sensor. En el caso de la base, la mayor sensibilidad se alcanzó para 0.5 mmol de  $\text{NaOH}$  por gramo de microesferas de  $\text{SiO}_2$ . A partir de esta concentración de base no se observó un mayor aumento de la sensibilidad, probablemente porque no habría más grupos silanoles que desprotonar o puentes siloxanos que abrir. En el caso del indicador, la mayor sensibilidad se alcanzó para 0.7  $\mu\text{mol}$  de indicador por gramo de soporte. A mayores concentraciones de indicador se observó una disminución de la sensibilidad fruto de la autodesactivación del estado excitado del complejo de  $\text{Ru(II)}$  provocado por la agregación de las moléculas indicadoras a altas concentraciones.

## 2.3. Sensor para la monitorización de $\text{NH}_3$ en biometano

### 2.3.1. Caracterización espectroscópica y fotoquímica de los indicadores de $\text{NH}_3$

Los dos complejos de  $\text{Ru(II)}$  ( $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  y  $[\text{Ru}(\text{DPP})_2\text{DEAMB}]\text{Cl}_2$ ) empleados para el desarrollo de un sensor luminiscente de  $\text{NH}_3$ , habían sido sintetizados y caracterizados con anterioridad.<sup>270,291</sup> Como parte de la familia de los complejos de  $\text{Ru(II)}$ , los dos indicadores muestran una banda de absorción en la región visible del espectro electromagnético, correspondiente a la transición  $\text{d} \rightarrow \pi^*$  (MLCT), y una banda de emisión en torno a 600–700 nm, correspondiente a la emisión desde el estado excitado triplete  $^3\text{MLCT}$  del complejo de  $\text{Ru(II)}$  (Figura 52).





**Figura 52.** Espectro de absorción (---) y de emisión (—) del indicador  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  en disolución acuosa y en aire ( $\lambda_{\text{exc}} = 460 \text{ nm}$ ).

La presencia de ligandos con grupos dadores/aceptores de protones en la esfera de coordinación del  $\text{Ru(II)}$ , hace que estos indicadores presenten unas características espectroscópicas y fotoquímicas diferentes en función del pH. Por lo que, la especie ácida y la especie básica pueden mostrar distintos máximos de absorción y emisión ( $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$  y  $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ ), distintos tiempos de vida de emisión y distintos rendimientos cuánticos de emisión. Por ejemplo, la especie ácida del indicador  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  presenta un máximo de absorción a 451 nm y un máximo de emisión a 645 nm, mientras que la especie básica posee su máximo de absorción a 459 nm y el máximo de emisión a 673 nm.<sup>270</sup> En la Tabla 14 se muestran los tiempos de vida de emisión de los indicadores en función del pH, así como las correspondientes constantes de acidez en el estado fundamental y en el estado excitado.

**Tabla 14.** Características fotoquímicas de los indicadores de  $\text{NH}_3$  en función del pH.

	$\tau_{\text{A} \rightarrow \text{O}}$	$\tau_{\text{B}2-} \text{ (ns)}$	$\tau_{\text{HA} \rightarrow \text{O}}$	$\tau_{\text{HB}-} \text{ (ns)}$	$\tau_{\text{H2B}} \text{ (ns)}$	$\text{p}K_{\text{a}}$	$\text{p}K_{\text{a1}}^*$	$\text{p}K_{\text{a2}}^*$
$\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]^{248}$		166 (23) 75 (77)		600	-	6.9	5.5	-
$[\text{Ru}(\text{DPP})_2\text{DEAMB}]\text{Cl}_2^{291}$		585		320	260	-	4.2	7.4

Mientras que el indicador  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  experimenta una disminución de la intensidad y tiempo de vida de emisión como consecuencia de la desprotonación del nitrógeno heterocíclico no quelatado del ligando PYIM, el indicador  $[\text{Ru}(\text{DPP})_2\text{DEAMB}]\text{Cl}_2$  experimenta un aumento de la intensidad y tiempo de vida de emisión como consecuencia de la desprotonación de los nitrógenos de las aminas del ligando DEAMB.

En presencia de  $\text{NH}_3$ , ambos indicadores perderían su protón y se esperaría una disminución de la intensidad y tiempo de vida de emisión, en el caso del indicador

$\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$ , y un aumento de la intensidad y tiempo de vida de emisión, en el caso del indicador  $[\text{Ru}(\text{DPP})_2\text{DEAMB}]\text{Cl}_2$ .

### 2.3.2. Membranas sensoras de $\text{NH}_3$

Con el objetivo de evaluar la respuesta de los tres indicadores al  $\text{NH}_3$ , se procedió a la fabricación de membranas sensoras a partir de la inmovilización de los complejos de  $\text{Ru}(\text{II})$  en distintos soportes poliméricos. Se optó, de nuevo, por soportes inorgánicos que proporcionaran una elevada sensibilidad para cuantificar los bajos niveles de  $\text{NH}_3$  en el biometano ( $\leq 10 \text{ mg m}^{-3}$ , equivalente a 13 ppmv), y una buena estabilidad para su posterior aplicación en la monitorización en continuo de  $\text{NH}_3$  en el biometano.

Se prepararon membranas sensoras con gel de sílice hidrofílica (S-5130,  $0.007 \mu\text{m}$ ), gel de sílice funcionalizada con grupos ácido bencenosulfónico (SCX,  $50 \mu\text{m}$ ), gel de sílice funcionalizada con grupos amino cuaternario (SAX,  $50 \mu\text{m}$ ) y microesferas de sílice ( $\text{SiO}_2\text{-ME}$ ,  $40\text{--}75 \mu\text{m}$ ). Los materiales luminiscentes sensores resultantes se instalaron en la celda de medida de acero inoxidable del equipo optoelectrónico “OSA Optical Sensor System”, y se evaluó su sensibilidad al  $\text{NH}_3$ , en términos de variación del desfase de luminiscencia, para un intervalo de concentración de analito determinado ( $\Delta\phi = \phi_0 - \phi_{[\text{NH}_3]}$ ).

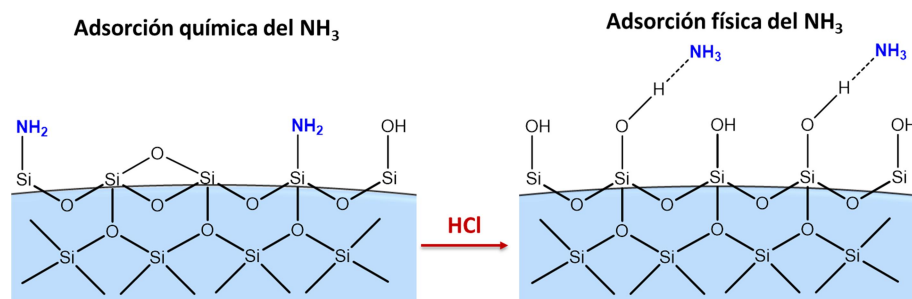
**Tabla 15.** Desfase de luminiscencia y sensibilidad de las membranas sensoras de  $\text{NH}_3$  preparadas a partir de la inmovilización del indicador en el soporte sólido en disolución agua/acetonitrilo.

	$[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]^{2-}$		$[\text{Ru}(\text{DPP})_2\text{DEAMB}]^{2+}$	
	$\phi_0 (^\circ)^a$	$\Delta\phi_{0-50} (^\circ)^b$	$\phi_0 (^\circ)^a$	$\Delta\phi_{0-50} (^\circ)^b$
S-5130	$24.23 \pm 0.07$	$4.5 \pm 0.2$	$45.87 \pm 0.03$	$0.9 \pm 0.04$
SCX	$30.7 \pm 0.4$	$2.6 \pm 0.2$	$44.51 \pm 0.08$	$1.81 \pm 0.07$
SAX	$31.99 \pm 0.1$	$2.5 \pm 0.1$	$22.5 \pm 0.09$	$0.6 \pm 0.1$

<sup>a</sup> Desfase de luminiscencia en ausencia de analito. <sup>b</sup> Excursión de desfase de luminiscencia en el intervalo de concentración de 0–50 ppmv de  $\text{NH}_3$ . Medidas realizadas a  $(25.0 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$ , a un caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  y una frecuencia de modulación de 78 kHz. Intervalos de confianza  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%;  $n = 3$ ).

De los resultados obtenidos (Tabla 15), se seleccionó el indicador  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  por su mayor sensibilidad al  $\text{NH}_3$  ( $\Delta\phi = 4.5$ ) en comparación con el indicador  $[\text{Ru}(\text{DPP})_2\text{DEAMB}]\text{Cl}_2$ . Sin embargo, dados los larguísimos tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) mostrados por todas las membranas sensoras ( $> 60 \text{ min}$  y  $> 200 \text{ min}$ , respectivamente), ninguna era adecuada para su posterior aplicación en la monitorización de  $\text{NH}_3$  en continuo y en tiempo real, en la planta de producción de biometano. Los lentos tiempos se atribuyeron a la fuerte adsorción química del amoníaco en el gel de sílice. La mayor parte de la superficie de estos soportes está formada por puentes siloxanos, que favorecen la adsorción

química del  $\text{NH}_3$ , a diferencia de los grupos silanoles que promueven la adsorción física del  $\text{NH}_3$ .<sup>299</sup> En principio, el tratamiento de la superficie de los soportes con un ácido fuerte (HCl) transformaría los puentes siloxanos en grupos silanoles y reduciría la adsorción química del  $\text{NH}_3$ , acelerando la respuesta y recuperación de los sensores luminiscentes (Figura 53).



**Figura 53.** Adsorción química y física del  $\text{NH}_3$  en la superficie del gel de sílice.

Se llevó a cabo la inmovilización del indicador  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  en los cuatro soportes, en acetonitrilo y en medio ácido (HCl), y se evaluó la sensibilidad y los tiempos de respuesta y recuperación de las membranas sensoras resultantes (Tabla 16).

**Tabla 16.** Sensibilidad, tiempo de respuesta y recuperación de las membranas sensoras de  $\text{NH}_3$  preparadas a partir de la inmovilización del indicador en el soporte sólido en acetonitrilo o en disolución acuosa de HCl.

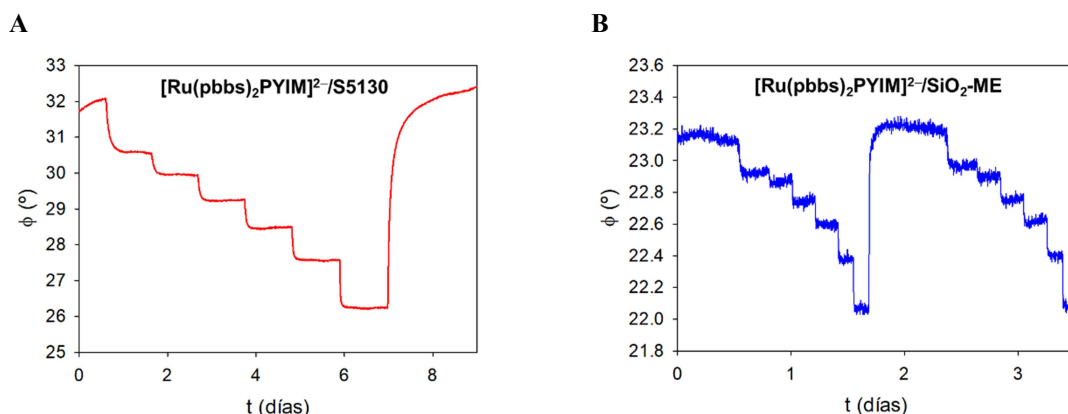
Soporte	$\Delta\phi_{0-16} (^{\circ})^a$		$t_{90} (\text{min})^b$		$t_{-90} (\text{min})^b$	
	$\text{CH}_3\text{CN}$	HCl	$\text{CH}_3\text{CN}$	HCl	$\text{CH}_3\text{CN}$	HCl
<b>S-5130</b>	$4.5 \pm 0.5$	$4.5 \pm 0.9$	$\lesssim 90$	$\lesssim 50$	$\lesssim 370$	$\lesssim 400$
<b><math>\text{SiO}_2\text{-ME}</math></b>	$0.8 \pm 0.2$	$1.0 \pm 0.1$	$\lesssim 60$	$\lesssim 10$	$\lesssim 260$	$\lesssim 15$
<b>SCX</b>	$1.5 \pm 0.2$	$1.42 \pm 0.07$	$\lesssim 60$	$\lesssim 45$	$\lesssim 200$	$\lesssim 200$
<b>SAX</b>	$1.2 \pm 0.1$	$1.75 \pm 0.05$	$\lesssim 90$	$\lesssim 120$	$\lesssim 300$	$\lesssim 200$

<sup>a</sup> Excursión de desfase de luminiscencia en el intervalo de concentración de 0–16 ppmv de  $\text{NH}_3$ . <sup>b</sup> Tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) del sensor para una variación del 90% de la señal en el intervalo de concentración de 0–16 y 16–0, respectivamente. Medidas realizadas a  $(25.0 \pm 0.2) ^{\circ}\text{C}$ , a un caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  y una frecuencia de modulación de 78 kHz. Intervalos de confianza  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%;  $n = 3$ ).

El tratamiento con la disolución acuosa de HCl solo fue efectiva en el caso del soporte de microesferas de  $\text{SiO}_2$ , donde se redujo considerablemente el tiempo de respuesta y recuperación (10 y 15 min, respectivamente), al mismo tiempo que la sensibilidad no se vio afectada. En los soportes S-5130 y SCX se logró una reducción del tiempo de respuesta. Sin embargo, el tiempo de recuperación siguió siendo igual de largo.

En la Figura 54 se muestra el perfil de respuesta temporal al  $\text{NH}_3$  (0–16 ppmv) de las dos mejores membranas sensoras desarrolladas, a partir de la inmovilización del indicador  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  en gel de sílice S-5130 en acetonitrilo y en microesferas de  $\text{SiO}_2$  tratadas con HCl. Mientras que el primer sensor (Figura 54A) destaca por su elevada sensibilidad al  $\text{NH}_3$

y su bajo límite de detección (71 ppbv), el segundo sensor (Figura 54B) se distingue por sus cortos tiempos de respuesta (10 min), en comparación con el resto de sensores (45–120 min).



**Figura 54.** Perfiles de respuesta temporal de las membranas sensoras  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{S-5130}$  (A) y  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$  tratada con HCl (B), en un intervalo de concentración de 0–16 ppmv de  $\text{NH}_3$ . Medidas realizadas a  $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ , con un caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  y frecuencia de modulación de 78 kHz.

Teniendo en cuenta la futura aplicación del sensor en la monitorización de  $\text{NH}_3$  en continuo y en tiempo real, se optó por el sensor  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$ , ya que combina unos tiempos de respuesta cortos con una sensibilidad inferior al sensor  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{S-5130}$ , pero adecuada a los niveles de  $\text{NH}_3$  habituales en el biometano.

Antes de continuar con la caracterización analítica de la membrana sensora de  $\text{NH}_3$  ( $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$ ), se evaluó el efecto de la concentración de indicador y de ácido en la respuesta de la membrana sensora al analito. Mientras que una baja concentración de indicador proporciona señales analíticas de baja relación señal/ruido, una alta concentración de complejo de  $\text{Ru}(\text{II})$  conlleva a una disminución de la sensibilidad del sensor debido a la formación de agregados de indicador y a la autodesactivación de su luminiscencia. La mayor sensibilidad del sensor y la menor relación señal/ruido se alcanzaron con una concentración de indicador de  $1.2 \mu\text{mol}$  ( $1.5 \text{ mg}$ ) de  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]$  por gramo de  $\text{SiO}_2\text{-ME}$  y una concentración de HCl de  $40 \text{ mmol}$  por gramo de  $\text{SiO}_2\text{-ME}$ .

### 3. Caracterización analítica de los sensores luminiscentes

#### 3.1. Sensor luminiscente de O<sub>2</sub>

La evaluación analítica de las membranas sensoras se realizó a partir de las medidas de desfase de luminiscencia llevadas a cabo con el equipo optoelectrónico “OSA Optical Sensor System”, a distintas concentraciones de O<sub>2</sub> en metano. Teniendo en cuenta que la actual normativa europea fue emitida durante la realización del presente proyecto, en primer lugar se llevó a cabo la calibración de los sensores luminiscentes en el intervalo de 0–153.2 ppmv de O<sub>2</sub>, atendiendo a las especificaciones de la normativa española vigente,<sup>300</sup> que establecía un máximo de 100 ppmv de O<sub>2</sub> en el biometano. Posteriormente, solo los sensores RD3/S-5130 y RB3/S-5130 se calibraron en un segundo intervalo de concentración de O<sub>2</sub> (0–10000 ppmv), atendiendo a la nueva normativa europea<sup>21-22</sup> que establece dos límites máximos de O<sub>2</sub> permitidos en el biometano (10 ppmv y 10000 ppmv). Los sensores fabricados con el soporte SCX no fueron calibrados en este intervalo, pues en principio los sensores de O<sub>2</sub> que iban a ser instalados en la planta de producción de biometano eran los basados en el soporte S-5130.

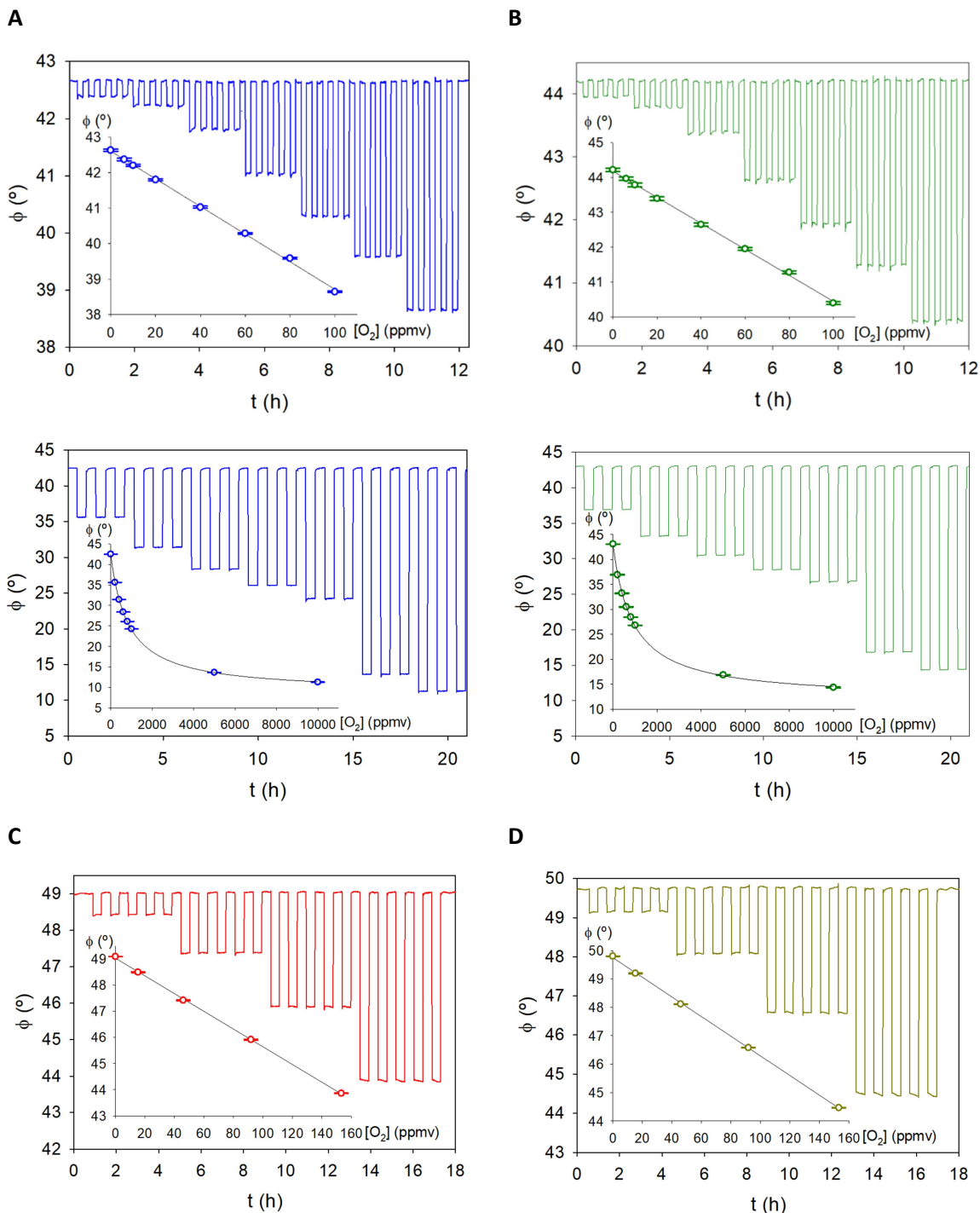
Los perfiles de respuesta temporal de los sensores de O<sub>2</sub>, así como las correspondientes curvas de calibrado, se muestran en la Figura 55. Las representaciones de Stern-Volmer de los diferentes sensores aparecen en la Figura 56. Como cabía esperar, la respuesta de los sensores luminiscentes de O<sub>2</sub> no es lineal en todo el intervalo de concentración (0–10000 ppmv). La curvatura de las representaciones de Stern-Volmer en el intervalo 0–10000 ppmv, tiene que ver con la diferente accesibilidad de las moléculas indicadoras en la membrana sensora.

Los tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) de las membranas sensoras fueron determinados y expresados como el tiempo necesario para alcanzar el 90 % de la variación de la señal analítica, al generar un cambio “instantáneo” en la concentración de analito. Los tiempos de respuesta y recuperación de todas las membranas sensoras de O<sub>2</sub> ensayadas fueron inferiores a 30 s.

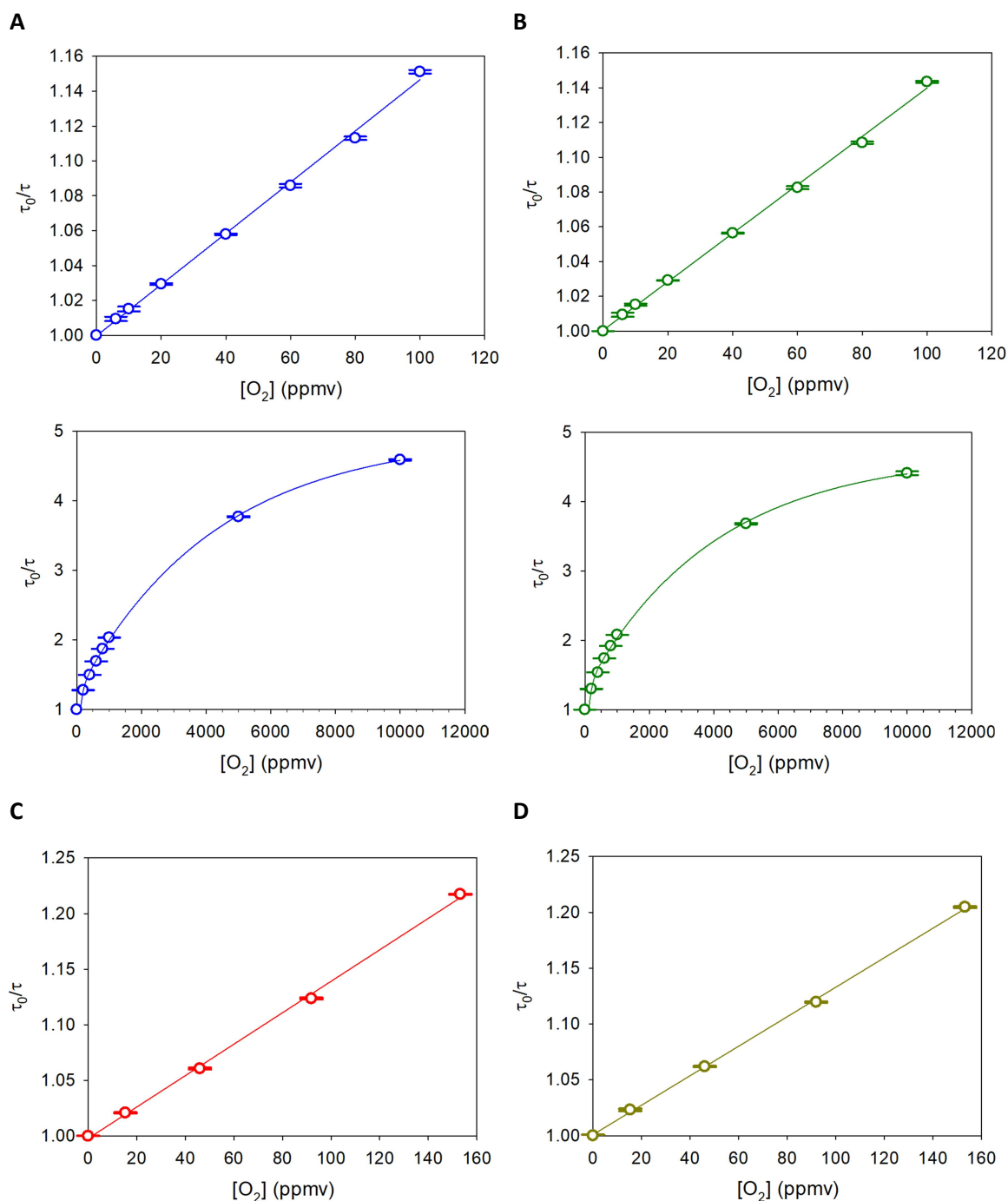
Las características analíticas de los sensores de O<sub>2</sub> (sensibilidad, LOD, LOQ, repetibilidad, reproducibilidad) se determinaron a partir de los perfiles de respuesta y las rectas de calibrado obtenidas en el intervalo de concentración de 0–100.5 ppmv de O<sub>2</sub> (Figura 55). Dichas rectas de calibrado se ajustaron a la ecuación de una recta ( $r^2 \geq 0.999$ ):

$$\phi = \phi_0 + m[\text{O}_2] \quad (\text{E } 17)$$

siendo  $\phi_0$  y  $\phi$  el desfase de luminiscencia en ausencia y en presencia de analito, respectivamente, y  $m$  la pendiente de la recta.



**Figura 55.** Perfiles de respuesta y rectas de calibrado de las membranas sensoras de  $O_2$  a distintas concentraciones de analito. A) RB3/S-5130 y B) RD3/S-5130 en los intervalos de concentración 0–100.5 y 0–10000 ppmv. C) RB3/SCX y D) RD3/SCX en el intervalo de concentración de 0–153.2 ppmv. Caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$ , frecuencia de modulación de 39 kHz, a  $(15.0 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$ . Intervalos de confianza  $\pm t s_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 5$ .



**Figura 56.** Representaciones de Stern-Volmer de los sensores luminiscentes de  $O_2$  en los intervalos de concentración ensayados a  $(15.0 \pm 0.2) ^\circ C$ . A) RB3/S-5130; B) RD3/S-5130; C) RB3/SCX; D) RD3/SCX. Intervalos de confianza  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 5$ .

### 3.1.1. Sensibilidad, límite de detección y límite de cuantificación

La sensibilidad, expresada como la pendiente de la recta de calibrado del sensor de  $O_2$ , y los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ), calculados como la concentración de  $O_2$  que produce una señal analítica 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de la señal analítica correspondiente a 35 muestras de 0 ppmv de  $O_2$ , se muestran en la Tabla 17.

Como cabía esperar, la membrana sensora RB3/S-5130 mostró una sensibilidad ligeramente superior y unos LOD y LOQ ligeramente inferiores al resto de sensores.

**Tabla 17.** Sensibilidad, límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) de las membranas sensoras de O<sub>2</sub>.

	Sensibilidad (° ppmv <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	LOD <sup>b</sup> (ppmv)	LOQ <sup>b</sup> (ppmv)
<b>RB3/S-5130</b>	0.0389 ± 0.0005	1.0 ± 0.3	3 ± 1
<b>RD3/S-5130</b>	0.0372 ± 0.0004	1.4 ± 0.6	5 ± 2
<b>RB3/SCX</b>	0.0365 ± 0.0005	1.4 ± 0.1	4.7 ± 0.3
<b>RD3/SCX</b>	0.0352 ± 0.0003	1.7 ± 0.2	5.7 ± 0.8

<sup>a</sup> Sensibilidad de las membranas sensoras de O<sub>2</sub> obtenida a partir de las rectas de calibrado (° ppmv<sup>-1</sup>) obtenida a partir de las medidas de desfase de la luminiscencia ( $\phi$ ) realizadas con las diferentes películas luminiscentes a distintas concentraciones de analito. <sup>b</sup> Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) determinadas para tres calibrados de la misma membrana sensora. Intervalos de confianza  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ , (15.0 ± 0.2) °C.

### 3.1.2. Precisión

La precisión de los sensores de O<sub>2</sub> se evaluó en términos de repetibilidad de las medidas de O<sub>2</sub> llevadas a cabo con la misma membrana sensora en diferentes muestras de O<sub>2</sub> (ver Tabla 18 y 19). Los valores de desviación estándar relativa (RSD) obtenidos, como medida de la dispersión en las medidas de O<sub>2</sub>, mostraron una buena repetibilidad de los sensores ensayados (equivalentes a una variación en la señal analítica  $\leq \pm 0.03^\circ$ ), con mayores valores de RSD a bajas concentraciones.

**Tabla 18.** Repetibilidad de las membranas sensoras de O<sub>2</sub> basadas en los indicadores RD3 y RB3 inmovilizados en el soporte S-5130.

RD3			RB3	
[O <sub>2</sub> ] <sub>T</sub> <sup>a</sup> (ppmv)	[O <sub>2</sub> ] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)	[O <sub>2</sub> ] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)
6.0	6.0 ± 0.4	6.0	6.3 ± 0.5	6.2
10.1	10.4 ± 0.5	4.0	10.6 ± 0.2	1.3
20.1	21.0 ± 0.4	1.6	20.5 ± 0.3	1.3
40.0	40.8 ± 0.2	0.4	40.6 ± 0.4	0.7
60.3	59.7 ± 0.4	0.5	59.5 ± 0.3	0.4
100.5	101.4 ± 0.3	0.2	101.8 ± 0.1	0.1

<sup>a</sup> [O<sub>2</sub>]<sub>T</sub> es la concentración teórica de O<sub>2</sub>. <sup>b</sup> [O<sub>2</sub>]<sub>exp</sub> es la concentración de O<sub>2</sub> obtenida de las medidas con el sensor de O<sub>2</sub>. Intervalos de confianza  $\pm t_{S_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %). <sup>c</sup> RSD es la desviación estándar relativa como medida de la dispersión en los valores de concentración determinados para cada concentración,  $n = 5$ , (15.0 ± 0.2) °C.



**Tabla 19.** Repetibilidad de las membranas sensoras de O<sub>2</sub> basadas en los indicadores RD3 y RB3 inmovilizados en el soporte SCX.

RD3			RB3	
[O <sub>2</sub> ] <sub>T</sub> <sup>a</sup> (ppmv)	[O <sub>2</sub> ] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)	[O <sub>2</sub> ] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)
15.3	16.1 ± 0.5	1.2	15.9 ± 0.4	1.0
46.0	46.3 ± 0.2	0.1	46.5 ± 0.1	0.1
91.9	91.6 ± 0.6	0.1	91.9 ± 0.2	0.1
153.2	152.9 ± 0.2	0.1	152.8 ± 0.4	0.1

<sup>a</sup> [O<sub>2</sub>]<sub>T</sub> es la concentración teórica de O<sub>2</sub>. <sup>b</sup> [O<sub>2</sub>]<sub>exp</sub> es la concentración de O<sub>2</sub> obtenida de las medidas con el sensor de O<sub>2</sub>. Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %). <sup>c</sup> RSD es la desviación estándar relativa como medida de la dispersión en los valores de concentración determinados para cada concentración,  $n = 5$ , (15.0 ± 0.2) °C.

La precisión de los sensores de O<sub>2</sub> RD3/S-5130 y RB3/S-5130 también se estimó en términos de reproducibilidad a partir de las medidas de O<sub>2</sub> llevadas a cabo con distintas membranas sensoras (Tabla 20). Se evaluaron distintos factores que pueden influir en la dispersión de las medidas de O<sub>2</sub>, como el proceso de instalación de la fase sensora, la heterogeneidad del material luminiscente sensor o el proceso de fabricación de la membrana sensora. Los valores de RSD obtenidos se compararon con la dispersión originada por la medida sucesiva de calibrados empleando la misma membrana sensora.

La principal fuente de dispersión en las medidas de O<sub>2</sub> se atribuyó a la heterogeneidad del material luminiscente sensor, ya que el proceso de fabricación de las membranas sensoras no proporcionó un incremento significativo de la incertidumbre en la medida. Este hecho se comprobó estadísticamente al observar que no existían diferencias significativas, a un nivel de confianza del 95%, en la sensibilidad ( $m$ ) de las membranas sensoras procedentes de un mismo lote o de distintos lotes ( $t_{\text{exp RD3}} = 2.66$  y  $t_{\text{exp RB3}} = 0.99 < t_{\text{tab}} = 2.776$ ). El proceso de instalación y desinstalación de la membrana sensora en la celda de medida provocó un ligero aumento de la dispersión de las medidas (RSD), probablemente atribuida a la heterogeneidad de la membrana sensora y a la dificultad de colocarla exactamente en la misma posición en la celda de medida.

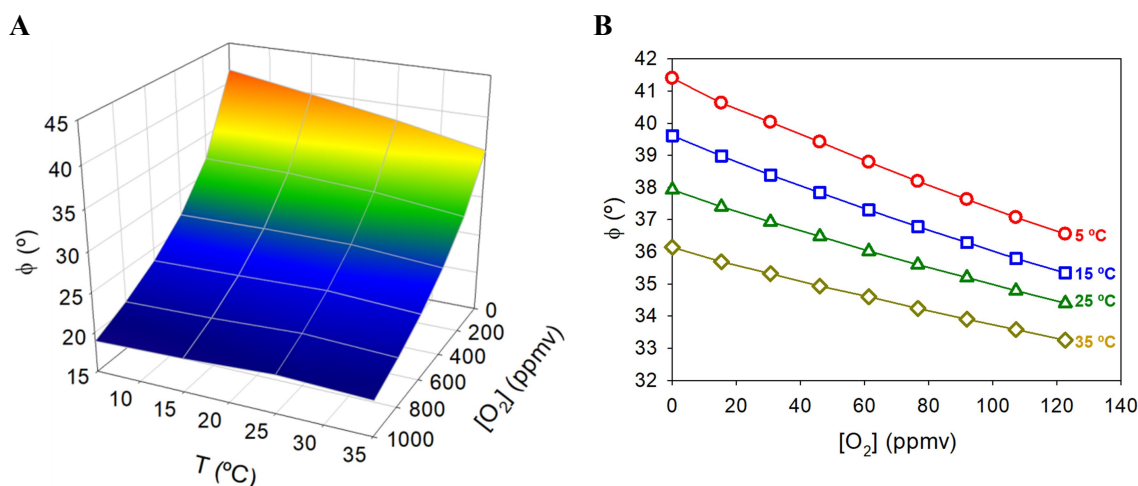
**Tabla 20.** Reproducibilidad de las membranas sensoras de O<sub>2</sub> RD3/S-5130 y RB3/S-5130.

	RD3/S-5130		RB3/S-5130		$n$
	$m$ (° ppmv <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	RSD <sup>b</sup> (%)	$m$ (° ppmv <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	RSD <sup>b</sup> (%)	
<b>Medida</b>	-0.0366 ± 0.0003	0.5	-0.0371 ± 0.0004	0.4	3 <sup>c</sup>
<b>Instalación</b>	-0.0369 ± 0.0006	1.3	-0.0372 ± 0.0006	1.3	5 <sup>c</sup>
<b>Un lote</b>	-0.039 ± 0.005	4.7	-0.039 ± 0.006	6.5	3 <sup>d</sup>
<b>Distintos lotes</b>	-0.035 ± 0.005	5.3	-0.037 ± 0.006	6.5	3 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>  $m$  es la pendiente de la recta de calibrado obtenida en cada experimento para el intervalo de concentración de 0–100.5 ppmv de O<sub>2</sub>. Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %). <sup>b</sup> RSD es la desviación estándar relativa. <sup>c</sup>  $n$  = número de instalaciones de la misma membrana sensora. <sup>d</sup>  $n$  = número de membranas sensoras ensayadas. Ensayos realizados a (15.0 ± 0.2) °C.

### 3.1.3. Efecto de la temperatura

El efecto de la temperatura sobre la respuesta de los sensores de O<sub>2</sub> fue evaluado llevando a cabo la calibración de las membranas sensoras a distintas concentraciones de O<sub>2</sub> (0–10000) y a distintas temperaturas (5, 15, 25 y 35 °C). A modo de ejemplo, en la Figura 57A se muestra la superficie de calibración ( $[O_2]/\phi/T$ ) de la membrana sensora RB3/S-5130 en el intervalo de concentración de 0 a 1000 ppmv de O<sub>2</sub>.



**Figura 57.** A) Superficie de calibración de la membrana sensora RB3/S-5130 en el intervalo de concentración de 0–1000 ppmv de O<sub>2</sub> y en el intervalo de temperaturas de 5–35 °C. B) Curvas de calibrado de la misma membrana sensora en el intervalo de concentración 0–122.6 ppmv de O<sub>2</sub> a distintas temperaturas. Caudal de gas de 50 mL min<sup>-1</sup> y frecuencia de modulación de 39 kHz.

De los resultados obtenidos se observó que la temperatura afectaba tanto al tiempo de vida de emisión de la molécula indicadora, como a la sensibilidad del sensor (Figura 57B). A medida que aumentaba la temperatura disminuía el tiempo de vida de emisión del indicador en ausencia de analito ( $\tau_0 = \tan\phi_0/2\pi f_{\text{mod}}$ ), debido a la mayor probabilidad de que un electrón en el estado excitado <sup>3</sup>MLCT promocione térmicamente a un estado excitado centrado en el metal (<sup>3</sup>MC), desde el que el electrón regresa al estado fundamental por un proceso no radiante.

La sensibilidad de la membrana sensora disminuía a medida que aumentaba la temperatura. La sensibilidad de los sensores luminiscentes de O<sub>2</sub> depende enormemente del tiempo de vida de emisión en ausencia de analito ( $\tau_0$ ). Según la ecuación de Stern-Volmer (E 14), a mayor  $\tau_0$ , mayor será la constante de Stern-Volmer ( $k_q \tau_0$ ), y por tanto, mayor será la sensibilidad del sensor al O<sub>2</sub>. Al aumentar la temperatura disminuye  $\tau_0$ , y por consiguiente también disminuye la sensibilidad del sensor. También se observó una tendencia a menores límites de detección y cuantificación a medida que disminuía la temperatura. En la Tabla 21 se muestran los valores de sensibilidad, límites de detección y límites de cuantificación de la membrana sensora RB3/S-5130 a distintas temperaturas (5–35 °C).

**Tabla 21.** Dependencia de la respuesta del sensor de O<sub>2</sub> RB3/S-5130 con la temperatura.

$T (^{\circ}\text{C})$	$\phi_0 (^{\circ})^a$	Sensibilidad ( $^{\circ}\text{ppmv}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	LOD (ppmv) <sup>c</sup>	LOQ (ppmv) <sup>c</sup>
5	$41.40 \pm 0.02$	$0.0401 \pm 0.0005$	$0.9 \pm 0.2$	$3 \pm 1$
15	$39.61 \pm 0.01$	$0.0355 \pm 0.0004$	$1.0 \pm 0.3$	$4 \pm 1$
25	$37.93 \pm 0.01$	$0.0292 \pm 0.0005$	$1.3 \pm 0.3$	$5 \pm 2$
35	$36.14 \pm 0.01$	$0.0238 \pm 0.0008$	$1.6 \pm 0.4$	$6 \pm 2$

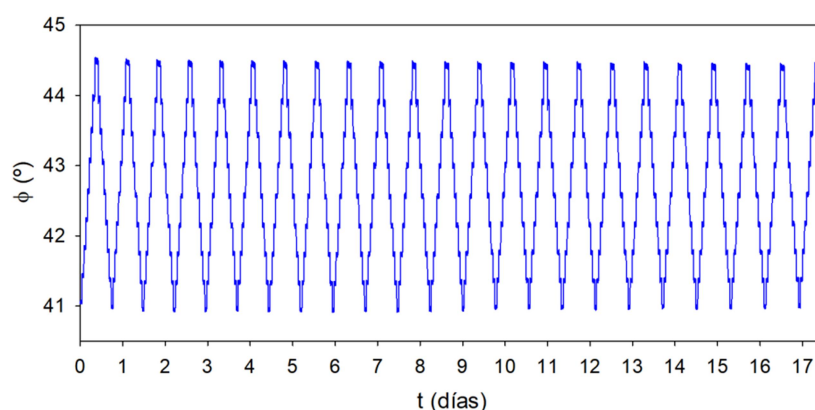
<sup>a</sup> Desfase de luminiscencia ( $\phi_0$ ) en ausencia de analito. <sup>b</sup> Sensibilidad de la membrana sensora de O<sub>2</sub> obtenida a partir de las rectas de calibrado ( $^{\circ}\text{ppmv}^{-1}$ ) en el intervalo de concentración 0–122.6 ppmv a distintas temperaturas (5–35 °C). <sup>c</sup> Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) determinados para tres calibrados de la misma membrana sensora. Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ .

### 3.1.4. Interferencias

La respuesta de los sensores de O<sub>2</sub> a otras especies presentes en el biometano fue estudiada para detectar cualquier posible interferencia cruzada que pudiera darse en las medidas de O<sub>2</sub>. Teniendo en cuenta la composición del biometano, se evaluó la respuesta de los sensores de O<sub>2</sub> al NH<sub>3</sub> (50.5 ppmv), H<sub>2</sub>S (10.1 ppmv), CH<sub>3</sub>SH (20.0 ppmv), CH<sub>4</sub> (100 %), CO (2 %), CO<sub>2</sub> (3 %), H<sub>2</sub> (5 %), benceno (100 ppmv), tolueno (100 ppmv), xileno (100 ppmv) y H<sub>2</sub>O (100 ppmv). En ningún caso se observó respuesta alguna del sensor, por lo que la interferencia de estos componentes fue descartada, al menos en el nivel de concentración ensayado.

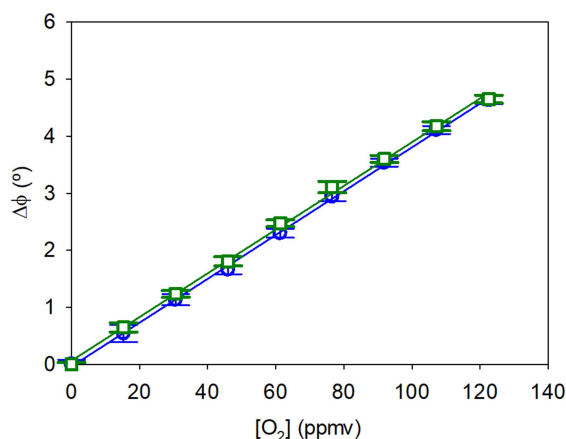
### 3.1.5. Estabilidad de las membranas sensoras

Por último, se evaluó la estabilidad de las membranas sensoras RD3/S-5130 y RB3/S-5130 en el laboratorio llevando a cabo medidas de O<sub>2</sub> con la misma membrana sensora durante más de dos semanas, obteniendo excelentes resultados (Figura 58).



**Figura 58.** Estabilidad de la respuesta del material luminiscente sensor RB3/S-5130 al O<sub>2</sub> en el intervalo de concentraciones de 0–122.6 ppmv (caudal de gas de 50 mL min<sup>-1</sup>, a (15.0 ± 0.2) °C y frecuencia de modulación de 39 kHz).

Además, se comprobó la estabilidad de los materiales luminiscentes sensores tras ser almacenados durante un año en recipientes opacos y herméticos, no observando grandes diferencias en la respuesta de las membranas sensoras al  $O_2$  (Figura 59). La comparación estadística de los dos calibrados obtenidos permitió concluir que no existían diferencias significativas entre ellos a un nivel de confianza del 95% ( $t_{\text{exp}} = 0.35 < t_{\text{tab}} = 2.776$ ).



**Figura 59.** Respuesta al  $O_2$  (0–122.6 ppmv) de la misma membrana sensora RB3/S-5130 antes (○) y después (□) de ser almacenada durante 1 año en un recipiente opaco y hermético (caudal de gas de 50 mL  $\text{min}^{-1}$ , a  $(15.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$  y frecuencia de modulación de 39 kHz). Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ .

Todas las membranas sensoras de  $O_2$  ensayadas mostraban unas características analíticas óptimas para la monitorización *in situ* y en continuo del  $O_2$  en el biometano. En comparación con otros dispositivos de medida (potenciométricos, electro-galvánicos, quimio-resistivos, paramagnéticos y TDLS), los sensores luminiscentes desarrollados presentaron una alta sensibilidad, bajos límites de detección ( $\sim 1$  ppmv) y una excelente selectividad y estabilidad a largo plazo, idónea para la monitorización *in situ* y en continuo.

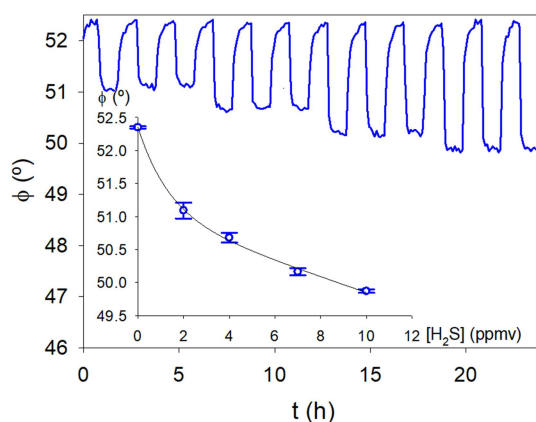
Al compararlos con otros sensores luminiscentes de  $O_2$ , existen membranas sensoras, basadas en metaloporfirinas de Pd(II) o Pt(II), quelatos de  $BF_2$  o complejos de Al(III) foforescentes, que son más sensibles y alcanzan LOD más bajos (0.005–0.5 ppmv). Sin embargo, el empleo de complejos de Ru(II) como indicadores resultó en un sensor de alta sensibilidad y bajo LOD, en comparación con otros sensores basados en este tipo de complejos (LOD > 75 ppmv), al mismo tiempo que nos permitió emplear un único equipo optoelectrónico para la monitorización secuencial de tres analitos ( $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$ ) diferentes en biometano.

La posterior validación analítica en laboratorio se llevó a cabo con la membrana RB3/S-5130 dada su mayor sensibilidad al  $O_2$ .

### 3.2. Sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S

La evaluación analítica de la membrana sensora RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME pre-tratada con NaOH se realizó a partir de las medidas de desfase de luminiscencia, llevadas a cabo con el equipo optoelectrónico “OSA Optical Sensor System” a distintas concentraciones de H<sub>2</sub>S en metano. De acuerdo a la normativa europea EN16723, que establece un límite máximo de H<sub>2</sub>S en biometano de 3.5 ppmv, se decidió estudiar el comportamiento del sensor en el intervalo de concentración de 0–10 ppmv.<sup>21-22</sup>

El perfil de respuesta temporal del sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S y la correspondiente curva de calibrado se muestran en la Figura 60.



**Figura 60.** Perfil de respuesta y recta de calibrado de la membranas sensora de H<sub>2</sub>S RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME a distintas concentraciones de analito (0–10 ppmv). Caudal de gas de 50 mL min<sup>-1</sup>, frecuencia de modulación de 156 kHz, a (25.0 ± 0.2) °C. Intervalos de confianza  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ .

Las principales características analíticas del sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S (sensibilidad, LOD, LOQ, repetibilidad, reproducibilidad) se determinaron a partir del perfil de respuesta y la curva de calibrado obtenidas en el intervalo de concentración de 0–10 ppmv de H<sub>2</sub>S. Las curvas de calibrado se ajustaron a la siguiente ecuación ( $r^2 \geq 0.999$ ):

$$y = y_0 + ax^b \quad (\text{E } 18)$$

#### 3.2.1. Sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación y tiempos de respuesta y recuperación

La sensibilidad, expresada como la variación de la señal analítica por unidad de concentración, se calculó en el intervalo de concentración de 0–2 ppmv. El límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ), se calcularon como la concentración de H<sub>2</sub>S que

produce una señal analítica 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de la señal analítica correspondiente a 12 muestras del blanco (0 ppmv de H<sub>2</sub>S). Los tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) de las membranas sensoras fueron determinados como el tiempo necesario para alcanzar el 90% de la variación de la señal analítica al generar un cambio “instantáneo” en la concentración de analito (4–7 ppmv). Las características analíticas del sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S se resumen en la Tabla 22.

**Tabla 22.** Características analíticas del sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S (RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME) a (25.0 ± 0.2) °C.

Parámetro	Valor
Intervalo de respuesta (ppmv)	0–50
Sensibilidad (° ppmv <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	0.625 ± 0.007
LOD (ppmv) <sup>b</sup>	0.025 ± 0.005
LOQ (ppmv) <sup>b</sup>	0.34 ± 0.03
$t_{90}$ (s) <sup>c</sup>	240
$t_{-90}$ (s) <sup>c</sup>	240

<sup>a</sup> Sensibilidad de la membrana sensora de H<sub>2</sub>S (° ppmv<sup>-1</sup>) obtenida en el intervalo de concentración 0–2 ppmv. <sup>b</sup> Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) determinadas para tres calibrados de la misma membrana sensora. <sup>c</sup> Tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) en el intervalo de concentración de 4–7 ppmv (datos obtenidos cada 120 s). Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ , (25.0 ± 0.2) °C.

El sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S presentó unas características analíticas adecuadas para la monitorización de este analito en biometano.

### 3.2.2. Precisión

La precisión del sensor de H<sub>2</sub>S fue evaluado en términos de repetibilidad en las medidas de H<sub>2</sub>S llevadas a cabo por la misma membrana sensora, y de reproducibilidad de fabricación en las medidas de H<sub>2</sub>S obtenidas de tres membranas sensoras diferentes, fabricadas de forma independiente (Tabla 23).

Se observaron mayores valores de RSD a bajas concentraciones de H<sub>2</sub>S, del mismo modo que en el resto de sensores. Este sensor mostró una excelente reproducibilidad. La dispersión en las medidas de H<sub>2</sub>S llevadas a cabo con distintas membranas sensoras no fue superior a la dispersión en las medidas de H<sub>2</sub>S realizadas con la misma membrana sensora, por lo que el proceso de fabricación no proporcionó un incremento de la incertidumbre de la medida.

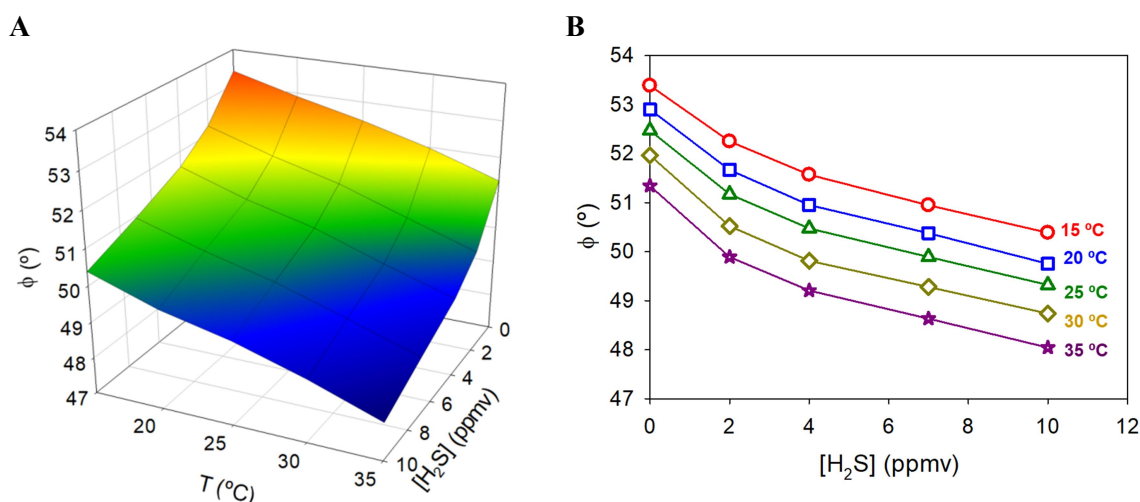
**Tabla 23.** Repetibilidad y reproducibilidad de las membranas sensoras de H<sub>2</sub>S (RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME).

Repetibilidad				Reproducibilidad		
[H <sub>2</sub> S] <sub>T</sub> <sup>a</sup> (ppmv)	[H <sub>2</sub> S] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)	n <sup>d</sup>	[H <sub>2</sub> S] <sub>exp</sub> <sup>b</sup> (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)	n <sup>e</sup>
2	1.94 ± 0.07	5.3	10	1.90 ± 0.07	1.6	3
4	4.2 ± 0.1	3.9	10	4.20 ± 0.03	0.3	3
7	6.9 ± 0.1	2.1	10	6.8 ± 0.2	1.1	3
10	10.0 ± 0.1	1.1	8	10.1 ± 0.2	0.9	3

<sup>a</sup> [H<sub>2</sub>S]<sub>T</sub> es la concentración teórica de H<sub>2</sub>S. <sup>b</sup> [H<sub>2</sub>S]<sub>exp</sub> es la concentración de H<sub>2</sub>S obtenida de las medidas con el sensor de H<sub>2</sub>S. Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %). <sup>c</sup> RSD es la desviación estándar relativa como medida de la dispersión en los valores de concentración determinados para cada concentración. <sup>d</sup> Número de medidas. <sup>e</sup> Número de membranas sensoras de H<sub>2</sub>S. Medidas llevadas a cabo a (25.0 ± 0.2) °C, caudal de gas de 50 mL min<sup>-1</sup> y frecuencia de modulación de 156 kHz.

### 3.2.3. Efecto de la temperatura

Con el objetivo de determinar el efecto de la temperatura sobre la respuesta del sensor de H<sub>2</sub>S se llevó a cabo la calibración de la membrana sensora en el intervalo de concentración de 0–10 ppmv, a distintas temperaturas (15, 20, 25, 30 y 35 °C). La superficie de calibración ([H<sub>2</sub>S]/ $\phi$ /T) obtenida se muestra en la Figura 61A.



**Figura 61.** A) Superficie de calibración de la membrana sensora RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME en el intervalo de concentración de 0–10 ppmv de H<sub>2</sub>S y en el intervalo de temperaturas de 15–35 °C (caudal de gas de 50 mL min<sup>-1</sup> y frecuencia de modulación de 156 kHz). B) Curvas de calibrado de la misma membrana sensora a distintas temperaturas.

Del mismo modo que ocurría con otros sensores basados en complejos de Ru(II), a medida que aumentaba la temperatura disminuía el tiempo de vida de emisión del indicador en ausencia de analito ( $\tau_0$ ), debido a la mayor probabilidad de promoción térmica del electrón del estado excitado <sup>3</sup>MLCT al estado excitado no radiante <sup>3</sup>MC (Figura 61). En el caso del sensor de H<sub>2</sub>S, la variación del desfase de luminiscencia con la temperatura fue menos acusada que en el caso del sensor de O<sub>2</sub>, siendo la variación de desfase de luminiscencia aproximadamente de 1.8° y

0.9° por cada 10 °C para el sensor de O<sub>2</sub> y de H<sub>2</sub>S, respectivamente (Tabla 24). Además, la sensibilidad del sensor de H<sub>2</sub>S no se vio afectada por la temperatura, como ocurría en el caso del sensor de O<sub>2</sub>.

**Tabla 24.** Dependencia de la respuesta del sensor de H<sub>2</sub>S RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME con la temperatura.

<i>T</i> (°C)	$\phi_0$ (°) <sup>a</sup>	Sensibilidad ( $\Delta\phi^\circ$ ) <sup>b</sup>
15	53.39 ± 0.02	3.1 ± 0.2
20	52.9 ± 0.1	3.2 ± 0.2
25	52.47 ± 0.07	3.1 ± 0.1
30	51.97 ± 0.04	3.2 ± 0.1
35	51.34 ± 0.01	3.2 ± 0.3

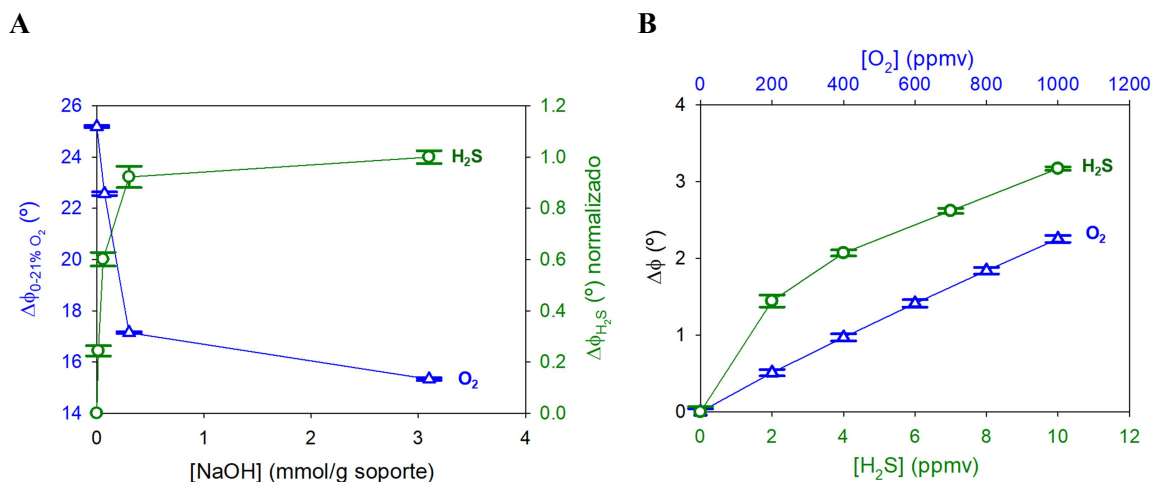
<sup>a</sup> Desfase de luminiscencia ( $\phi_0$ ) en ausencia de analito. <sup>b</sup> Sensibilidad de la membrana sensora de H<sub>2</sub>S como excursión de desfase de luminiscencia en el intervalo de concentración de 0–10 ppmv ( $\Delta\phi^\circ$ ), a distintas temperaturas (15–35 °C). Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ .

### 3.2.4. Interferencias

En el estudio de la respuesta de la membrana sensora RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME a otras especies presentes en el biometano, que puedan ser potencialmente interferentes en las medidas de H<sub>2</sub>S, se evaluaron los siguientes gases: NH<sub>3</sub> (50.5 ppmv), O<sub>2</sub> (0–21 %), CH<sub>3</sub>SH (0–20 ppmv), CH<sub>4</sub> (100 %), CO (2 %), CO<sub>2</sub> (3 %), H<sub>2</sub> (5 %), benceno (100 ppmv), tolueno (100 ppmv), xileno (100 ppmv) y H<sub>2</sub>O (100 ppmv). El sensor de H<sub>2</sub>S no respondió a ninguno de los gases ensayados, salvo al O<sub>2</sub> y al CH<sub>3</sub>SH.

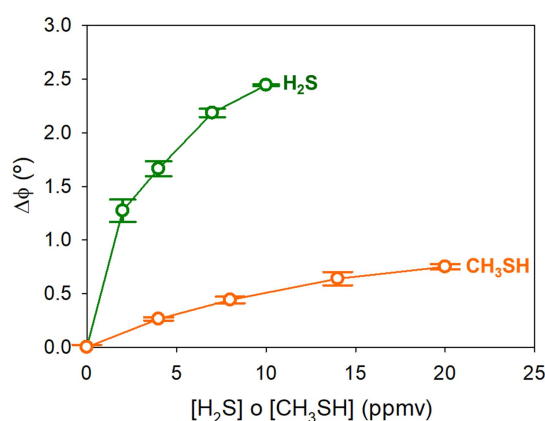
El O<sub>2</sub> es un conocido desactivador de la luminiscencia de los complejos de Ru(II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelatantes.<sup>242</sup> Se observó que la activación de la superficie de las microesferas de SiO<sub>2</sub> con una disolución acuosa de NaOH, reducía la interferencia del O<sub>2</sub>, probablemente por la menor adsorción de este gas en el soporte debido a la presencia de los grupos silanóxido cargados negativamente. Se estudió la influencia de la concentración de base empleada en la sensibilidad al O<sub>2</sub> en el intervalo de concentración de 0–21 % O<sub>2</sub>, observándose una reducción considerable de la sensibilidad al emplear 3.3 mmol de NaOH por g de soporte, sin afectar a la sensibilidad del sensor al H<sub>2</sub>S (Figura 62A). En la Figura 62B se compara la sensibilidad de la membrana sensora luminiscencia al O<sub>2</sub> y al H<sub>2</sub>S. La sensibilidad del sensor al H<sub>2</sub>S es 375 veces mayor al H<sub>2</sub>S que al O<sub>2</sub> en el intervalo de concentración de 0–2 ppmv de H<sub>2</sub>S y 104 veces más sensible al H<sub>2</sub>S en el intervalo de concentración de 2–10 ppmv de H<sub>2</sub>S. La interferencia del O<sub>2</sub> es prácticamente nula si la concentración de O<sub>2</sub> en el biometano es inferior a 100 ppmv. En caso contrario, si la concentración de O<sub>2</sub> es superior, siempre se puede corregir la señal analítica del sensor de la contribución del O<sub>2</sub>.





**Figura 62.** A) Sensibilidad ( $\Delta\phi$ ) de la membrana sensora RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME al O<sub>2</sub> (0–21 %) y al H<sub>2</sub>S (0–10 ppmv) en función de la concentración de NaOH empleada en el tratamiento del soporte. B) Comparación de la sensibilidad ( $\Delta\phi$ ) de la membrana sensora RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME a 1000 ppmv de O<sub>2</sub> en CH<sub>4</sub> y a 10 ppmv de H<sub>2</sub>S en CH<sub>4</sub>. Caudal de gas de 50 mL min<sup>-1</sup>, frecuencia de modulación de 156 kHz, a 23 ± 2 °C. Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ .

Como cabía esperar, el sensor luminiscente también respondió al CH<sub>3</sub>SH dada la similar naturaleza de este analito con respecto al H<sub>2</sub>S (Figura 63). No obstante, la sensibilidad del sensor al CH<sub>3</sub>SH es inferior al H<sub>2</sub>S. Para una concentración de 4 ppmv, el sensor luminiscente es 6 veces más sensible al H<sub>2</sub>S que al CH<sub>3</sub>SH. Además, dado el nivel máximo de mercaptanos (6 mg m<sup>-3</sup>, equivalente a 3 ppmv) permitido en el biometano según la normativa EN16723, éste gas no supone una gran interferencia en las medidas de H<sub>2</sub>S ya que, genera una variación de señal analítica inferior a 0.2° de desfase de luminiscencia.



**Figura 63.** Comparación de la sensibilidad ( $\Delta\phi$ ) de la membrana sensora RP2T/SiO<sub>2</sub>-ME a 20 ppmv de CH<sub>3</sub>SH en CH<sub>4</sub> y a 10 ppmv de H<sub>2</sub>S en CH<sub>4</sub>. Caudal de gas de 50 mL min<sup>-1</sup>, frecuencia de modulación de 156 kHz, a 23 ± 2 °C. Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ .

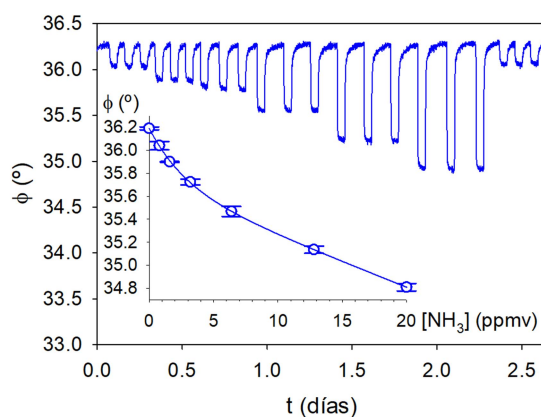
El sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S desarrollado presentó unas características analíticas superiores a otros dispositivos de medida, para la monitorización de H<sub>2</sub>S en el biometano. Los

sensores potenciométricos, amperométricos y quimiorresistivos son poco selectivos, ya que responden a otros gases como  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{H}_2$  y  $\text{NH}_3$ . Los cromatógrafos de gases con detectores específicos de  $\text{H}_2\text{S}$  (SCD o PFPD), son equipos complejos y de alto coste, que requieren de personal cualificado y de un mantenimiento costoso. Los analizadores colorimétricos y luminiscentes no son reversibles, por lo que no son la opción más adecuada para una monitorización en continuo. Por último, los sensores TDLS y de absorción UV-VIS muestran una selectividad limitada ya que algunos componentes presentes en el gas pueden absorber parte de la luz, proporcionando falsos valores de concentración de  $\text{H}_2\text{S}$ .

### 3.3. Sensor luminiscente de $\text{NH}_3$

La caracterización analítica de la membrana sensora de  $\text{NH}_3$  ( $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$ ) se realizó a partir de las medidas de desfase de luminiscencia llevadas a cabo con el equipo optoelectrónico “OSA Optical Sensor System” en el intervalo de concentración de 0–20 ppmv de  $\text{NH}_3$ . La actual normativa europea (EN16723) establece un límite máximo permitido de  $\text{NH}_3$  en biometano de  $10 \text{ mg m}^{-3}$ , equivalente a 13 ppmv de  $\text{NH}_3$ .<sup>21-22</sup>

En la Figura 64 se muestra el perfil de respuesta temporal y la curva de calibrado del sensor de  $\text{NH}_3$  en el intervalo de concentración de 0–20 ppmv de  $\text{NH}_3$ .



**Figura 64.** Perfil de respuesta y recta de calibrado de la membrana sensora de  $\text{NH}_3$   $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$  a distintas concentraciones de analito (0–20 ppmv). Caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$ , frecuencia de modulación de 78 kHz, a  $(25.0 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$ . Intervalos de confianza  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ .

Las curvas de calibrado obtenidas de la respuesta del sensor al  $\text{NH}_3$  se ajustaron a la ecuación E 19 ( $r^2 \geq 0.999$ ) y se emplearon para determinar las principales características analíticas del sensor (sensibilidad, LOD, LOQ, repetibilidad, reproducibilidad).

$$y = ae^{-bx} + ce^{-dx} \quad (\text{E } 19)$$

### 3.3.1. Sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación y tiempos de respuesta y recuperación

En la Tabla 25 se recogen las principales características analíticas del sensor luminiscente de  $\text{NH}_3$ . La sensibilidad se determinó como la variación de la señal analítica por unidad de concentración en el intervalo de concentración de 0–0.8 ppmv de  $\text{NH}_3$ . El límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ), se calcularon a partir de la ecuación de la curva de calibrado (E 19) como la concentración de  $\text{NH}_3$  que produce una señal analítica 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de la señal analítica correspondiente a 18 muestras del blanco (0 ppmv de  $\text{NH}_3$ ). Los tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) de las membranas sensoras fueron determinados como el tiempo necesario para alcanzar el 90% de la variación de la señal analítica al generar un cambio “instantáneo” en la concentración de analito (0–20 ppmv).

**Tabla 25.** Características analíticas del sensor luminiscente de  $\text{NH}_3$  ( $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$ ) a  $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ .

Parámetro	Valor
Intervalo de respuesta (ppmv)	0–50
Sensibilidad ( $^\circ\text{ppmv}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$0.282 \pm 0.008$
LOD (ppmv) <sup>b</sup>	$0.15 \pm 0.04$
LOQ (ppmv) <sup>b</sup>	$0.5 \pm 0.1$
$t_{90}$ (min) <sup>c</sup>	$4 \pm 1$
$t_{-90}$ (min) <sup>c</sup>	$13 \pm 1$

<sup>a</sup> Sensibilidad de la membrana sensora de  $\text{NH}_3$  ( $^\circ\text{ppmv}^{-1}$ ) obtenida en el intervalo de concentración 0–0.8 ppmv. <sup>b</sup> Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) determinadas para tres calibrados de la misma membrana sensora. <sup>c</sup> Tiempos de respuesta ( $t_{90}$ ) y recuperación ( $t_{-90}$ ) en el intervalo de concentración de 0–20 ppmv (datos obtenidos cada 60 s). Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ ,  $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ .

El sensor de  $\text{NH}_3$  desarrollado posee unas características analíticas óptimas para su aplicación en la monitorización de este analito en biometano.

### 3.3.2. Precisión

La precisión del sensor luminiscentes de  $\text{NH}_3$  se evaluó en términos de desviación estándar relativa (RSD) de las sucesivas medidas de  $\text{NH}_3$  llevadas a cabo con la misma membrana sensora (repetibilidad) y con tres membranas sensoras fabricadas de forma independiente

(reproducibilidad de fabricación). Los resultados obtenidos de la evaluación de la precisión se resumen en la Tabla 26.

**Tabla 26.** Repetibilidad y reproducibilidad de las membranas sensoras de  $\text{NH}_3$  ( $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$ ).

Repetibilidad			Reproducibilidad	
$[\text{NH}_3]_{\text{T}}^{\text{a}}$ (ppmv)	$[\text{NH}_3]_{\text{exp}}^{\text{b}}$ (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)	$[\text{NH}_3]_{\text{exp}}^{\text{b}}$ (ppmv)	RSD <sup>c</sup> (%)
0.8	$0.89 \pm 0.04$	1.9	$0.83 \pm 0.08$	4.2
1.6	$1.61 \pm 0.08$	2.0	$1.6 \pm 0.3$	8.0
3.2	$3.0 \pm 0.2$	2.7	$3.2 \pm 0.1$	1.8
6.4	$6.4 \pm 0.3$	1.9	$6.4 \pm 0.2$	1.6
12.8	$12.9 \pm 0.4$	1.6	$12.9 \pm 0.9$	2.9
20.0	$20.0 \pm 0.5$	1.1	$20 \pm 1$	2.3

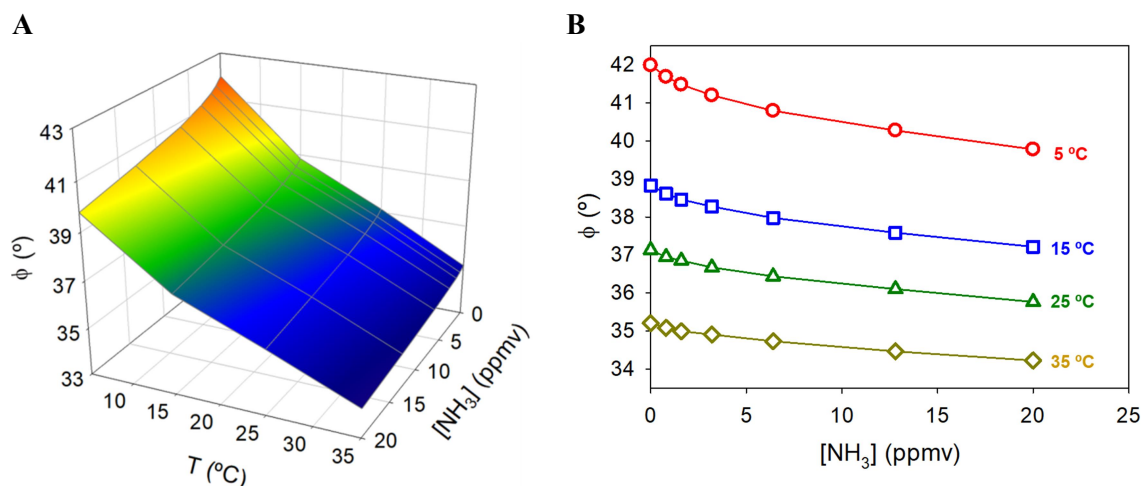
<sup>a</sup>  $[\text{NH}_3]_{\text{T}}$  es la concentración teórica de  $\text{NH}_3$ . <sup>b</sup>  $[\text{NH}_3]_{\text{exp}}$  es la concentración de  $\text{NH}_3$  obtenida de las medidas con el sensor de  $\text{NH}_3$ . Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95 %),  $n = 3$ . <sup>c</sup> RSD es la desviación estándar relativa como medida de la dispersión en los valores de concentración determinados para cada concentración,  $n = 3$ . Medidas llevadas a cabo a  $(25.0 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$ , caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  y frecuencia de modulación de 78 kHz.

Los resultados obtenidos mostraron una buena precisión en la medida de los distintos valores de  $\text{NH}_3$  ensayados. En los resultados de reproducibilidad, se observaron mayores valores de dispersión en comparación con los resultados de la repetibilidad, especialmente a concentraciones bajas de  $\text{NH}_3$ .

### 3.3.3. Efecto de la temperatura

Para evaluar el efecto de la temperatura sobre la respuesta del sensor, se llevó a cabo la calibración de la membrana sensora luminiscente en el intervalo de concentración de 0–20 ppmv de  $\text{NH}_3$  a diferentes temperaturas (5–35  $^\circ\text{C}$ ). En la Figura 65A se muestra la superficie de calibración obtenida ( $[\text{NH}_3]/\phi/T$ ) para el sensor de  $\text{NH}_3$ .

Al aumentar la temperatura se produjo una disminución del tiempo de vida de emisión del indicador como consecuencia de la promoción térmica del electrón del estado excitado  $^3\text{MLCT}$  al estado excitado no radiante  $^3\text{MC}$  (Figura 65B). El efecto de la temperatura sobre el sensor de  $\text{NH}_3$  fue similar al efecto de la temperatura sobre el sensor de  $\text{O}_2$  en el intervalo de temperaturas de 15–35  $^\circ\text{C}$ , con una variación de desfase de luminiscencia de  $1.9^\circ$  por cada 10  $^\circ\text{C}$  de temperatura. Este efecto fue más acusado a 5  $^\circ\text{C}$  donde se produjo una variación de desfase de luminiscencia de  $2.99^\circ$  por cada 10  $^\circ\text{C}$  (Tabla 27).



**Figura 65.** A) Superficie de calibración de la membrana sensora  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$  en el intervalo de concentración de 0–20 ppmv de  $\text{NH}_3$  y en el intervalo de temperaturas de 5–35 °C (caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  y frecuencia de modulación de 78 kHz). B) Curvas de calibrado de la misma membrana sensora a distintas temperaturas.

**Tabla 27.** Dependencia de la respuesta del sensor de  $\text{NH}_3$   $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$  con la temperatura.

T (°C)	$\phi_0$ (°) <sup>a</sup>	Sensibilidad ( $\Delta\phi$ /°) <sup>b</sup>	LOD (ppmv) <sup>c</sup>	LOQ (ppmv) <sup>c</sup>
5	$41.99 \pm 0.04$	$2.2 \pm 0.1$	$0.06 \pm 0.04$	$0.28 \pm 0.06$
15	$39.0 \pm 0.1$	$1.61 \pm 0.07$	$0.09 \pm 0.03$	$0.4 \pm 0.05$
25	$37.1 \pm 0.1$	$1.30 \pm 0.06$	$0.14 \pm 0.04$	$0.5 \pm 0.2$
35	$35.2 \pm 0.04$	$0.98 \pm 0.04$	$0.21 \pm 0.07$	$0.7 \pm 0.2$

<sup>a</sup> Desfase de luminiscencia ( $\phi_0$ ) en ausencia de analito. <sup>b</sup> Sensibilidad de la membrana sensora de  $\text{NH}_3$  como excursión de desfase de luminiscencia en el intervalo de concentración de 0–20 ppmv ( $\Delta\phi$ /°), a distintas temperaturas (5–35 °C). <sup>c</sup> Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) determinados para tres calibrados de la misma membrana sensora. Intervalos de confianza  $\pm t S_{n-1} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%),  $n = 3$ .

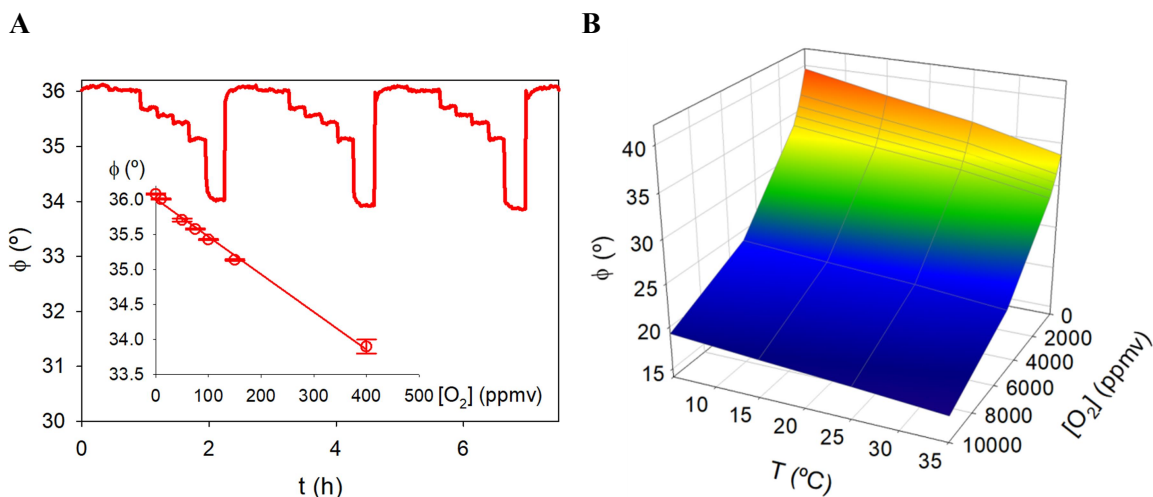
Del mismo modo que ocurría con el sensor de  $\text{O}_2$ , se observó una disminución de la sensibilidad del sensor a medida que aumentaba la temperatura (Tabla 27), efecto que está directamente relacionado con la disminución del tiempo de vida de emisión. La sensibilidad de los sensores luminiscentes depende de la constante de Stern-Volmer y ésta es mayor a medida que aumenta el tiempo de vida de emisión de la molécula indicadora en ausencia de analito ( $\tau_0$ ), el cual aumenta al disminuir la temperatura. En cuanto a los límites de detección y cuantificación se observó una tendencia a menores LOD y LOQ a medida que disminuía la temperatura. En la Tabla 27 se muestran los valores de sensibilidad, límites de detección y límites de cuantificación de la membrana sensora  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$  a distintas temperaturas (5–35 °C).

### 3.3.4. Interferencias

Se evaluó la respuesta de la membrana sensora de  $\text{NH}_3$  a otros gases habituales en el biometano que pudieran suponer una interferencia en las medidas de  $\text{NH}_3$ . No se observó respuesta del sensor al  $\text{CH}_4$  (100 %),  $\text{H}_2\text{S}$  (10.1 ppmv) y  $\text{CH}_3\text{SH}$  (20.0 ppmv), en los niveles de concentración estudiados. Por el contrario, el  $\text{O}_2$  resultó ser un gas interferente a partir de 10 ppmv de concentración (Figura 66A).

Teniendo en cuenta que la normativa europea EN16723 establece dos límites máximos de  $\text{O}_2$  permitidos en el biometano, en aquellas instalaciones donde el límite máximo de  $\text{O}_2$  es 10 ppmv, este gas no supone una interferencia para las medidas de  $\text{NH}_3$ . Por el contrario, en aquellas instalaciones donde el límite máximo puede llegar hasta las 10000 ppmv de  $\text{O}_2$ , este gas es un interferente en las medidas de  $\text{NH}_3$ , y es necesario llevar a cabo una corrección de la señal analítica del sensor de  $\text{NH}_3$  de la respuesta del  $\text{O}_2$ , para poder proporcionar medidas reales de  $\text{NH}_3$  en el biometano.

Por ello, se llevó a cabo la evaluación de la respuesta del sensor de  $\text{NH}_3$  al  $\text{O}_2$  en el intervalo de concentración de 0–10000 ppmv y a diferentes temperaturas (5–35 °C), obteniéndose la correspondiente superficie de calibración ( $[\text{O}_2]/\phi/T$ ) (Figura 66B). Así, a partir de la concentración de  $\text{O}_2$  en el biometano, monitorizado con el sensor de  $\text{O}_2$  antes descrito, y las superficies de calibración obtenidas para el sensor de  $\text{NH}_3$  (Figura 65A y Figura 66B), fue posible cuantificar la concentración de  $\text{NH}_3$  real en el biometano.



**Figura 66.** A) Perfil de respuesta temporal y recta de calibrado de la membrana sensora  $\text{Na}_2[\text{Ru}(\text{pbbs})_2\text{PYIM}]/\text{SiO}_2\text{-ME}$  frente al  $\text{O}_2$  (0–400 ppmv) a  $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ . Intervalos de confianza  $\pm t_{s_{n-1}} n^{-1/2}$  (nivel de confianza del 95%). B) Superficie de calibración de la misma membrana sensora obtenida en el intervalo de concentración de 0–10000 ppmv de  $\text{O}_2$  a distintas temperaturas (5–35 °C). Medidas llevada a cabo a un caudal de gas de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  y a una frecuencia de modulación de 78 kHz.

La membrana sensora de  $\text{NH}_3$  ensayada mostró una sensibilidad y unos límites de detección y cuantificación óptimos para la monitorización de  $\text{NH}_3$  en biometano, además de unos tiempos de respuesta y recuperación relativamente cortos. Este sensor puede considerarse una buena alternativa a otro tipo de dispositivos de medida que son poco selectivos (electroquímicos y quimioresistivo) o presentan una selectividad limitada (TDLS y absorción UV-VIS), son caros y complejos (cromatografía de gases acoplado con un detector), o muestran una escasa estabilidad y/o tiempos de respuesta largos (~140 min) (colorimétricos, luminiscentes).

#### 4. Validación analítica de los sensores luminiscentes en laboratorio

Para la validación en laboratorio de los sensores luminiscentes se emplearon muestras certificadas de  $O_2$ ,  $NH_3$  y  $H_2S$  proporcionadas por Conste (San Sebastián de los Reyes, Madrid). Se compararon los valores de concentración obtenidos con los sensores luminiscentes, con la concentración de analito proporcionada por las botellas de gas certificadas.

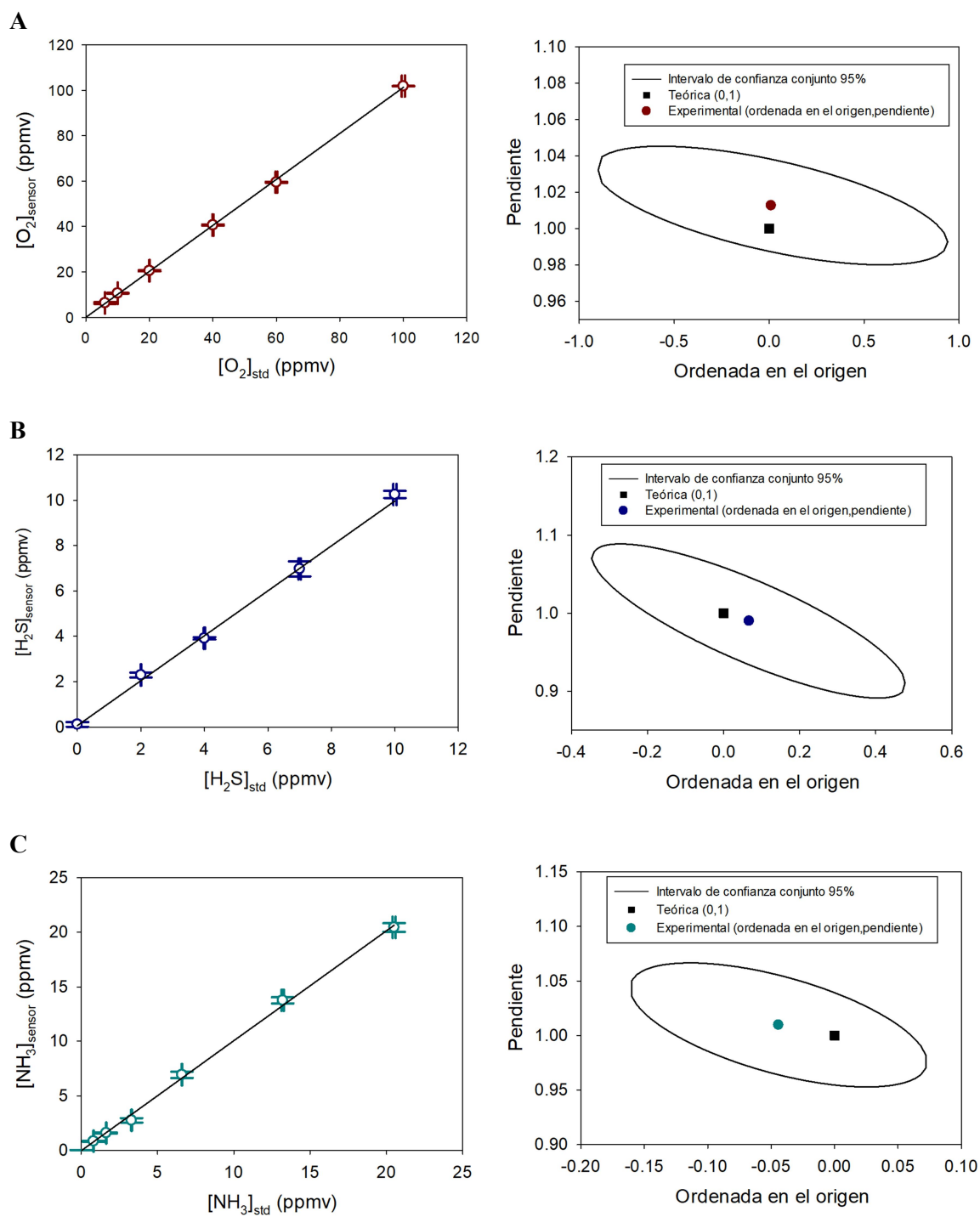
El modelo BLS, regresión por mínimos cuadrados con errores en ambos ejes, permite comparar los niveles de concentración de analito utilizando una regresión lineal. Para ello se determinan los coeficientes de la recta de regresión, considerando errores heterocedásticos en ambos ejes, y un intervalo de confianza conjunto para la ordenada en el origen y la pendiente, que permita la comparación simultánea de estos dos coeficientes con sus valores de referencia teniendo en cuenta su correlación.<sup>301</sup> El resultado es una superficie elíptica cuyo centro corresponde a los coeficientes de la recta de regresión (ordenada en el origen y pendiente), cuyos límites dependen de la magnitud del error experimental, las varianzas correspondientes a los coeficientes de la recta de regresión y al nivel de significación seleccionado, y cuya inclinación tiene que ver con la correlación existente entre la ordenada en el origen y la pendiente.<sup>302</sup> Los coeficientes de la recta de regresión se calcularon aplicando un algoritmo basado en un método iterativo.<sup>303</sup>

La Figura 67 muestra, por un lado, las rectas de regresión BLS obtenidas en la comparación de los niveles de concentración de los sensores de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$ , con los niveles de concentración de las botellas de gases certificadas (estándar), y por otro lado, los intervalos de confianza conjuntos para la ordenada en el origen y la pendiente, que permiten la comparación de estos dos coeficientes con los valores de referencia.

Se puede decir que el método está validado si la ordenada en el origen y la pendiente de la recta de regresión calculados no difieren significativamente del valor de referencia 0 y 1, respectivamente. Eso tiene lugar cuando el valor de referencia (0,1) está incluido en la superficie definida por la elipse.

En los tres sensores se observa que, para un nivel de confianza del 95 %, los coeficientes de la recta de regresión calculados no difieren significativamente de los valores de referencia (0,1). Por lo que se puede afirmar que los tres sensores luminiscentes desarrollados ( $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$ ) están validados.





**Figura 67.** Comparación de métodos empleando una recta de regresión BLS (izqda). Intervalo de confianza conjunto de la ordenada en el origen y la pendiente de la recta de regresión lineal BLS, a un nivel de confianza del 95 %. A) Sensor luminiscente de  $O_2$ . B) Sensor luminiscente de  $H_2S$ . C) Sensor luminiscente de  $NH_3$ .

## 5. Monitorización *in situ*, a tiempo real y en continuo de O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y NH<sub>3</sub> en biometano

Los sensores luminiscentes se instalaron en una planta de producción de biometano situada en la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) de Guadalete, en Jerez de la Frontera (España). El biometano, que se obtenía de la purificación del biogás generado de la fermentación anaerobia de los lodos de la depuradora, se comprimía a 250 bar y se almacenaba en botellas de gas. Posteriormente, se empleaba como biocombustible para vehículos (ver Figura 68).

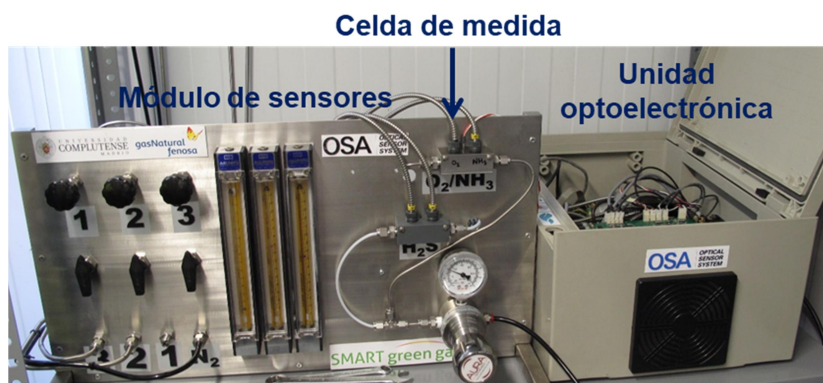


**Figura 68.** Sistema de almacenamiento del biometano y gasinera de la EDAR de Guadalete en Jerez de la frontera (España).

La línea de muestra se situó justo antes de la entrada del biometano al sistema de almacenamiento e incorporaba un reductor de presión a 2 bar. La línea consistía en un tubo de acero inoxidable de 1/4" directamente conectado con el equipo optoelectrónico (OSA). Durante el periodo de funcionamiento de la planta, generalmente de lunes a viernes de 9 a 17 h, la muestra de biometano provenía de la planta de producción del gas, mientras que en los días y horarios no laborables, la muestra de biometano se tomaba del sistema de almacenamiento.

El sistema "OSA Optical Sensor System", diseñado y fabricado en nuestros laboratorios, se compone de dos unidades básicas, la unidad optoelectrónica y el módulo de sensores, unidos entre sí por cables de fibra óptica (Figura 69). La unidad optoelectrónica es un equipo multicanal que permite la monitorización en continuo de hasta cuatro analitos (O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y NH<sub>3</sub>), especialmente en aquellos entornos donde los sensores convencionales no dan los resultados esperados, ya sea por especificaciones de tipo ATEX, por requisitos de escaso mantenimiento o por necesidades de miniaturización del terminal. La naturaleza óptica de los sensores y la

ausencia de fase líquida en el terminal, le confiere además una considerable robustez, ausencia de riesgos eléctricos provocados por los terminales, así como insensibilidad de los mismos a perturbaciones electromagnéticas. La unidad optoelectrónica incorpora además un sensor de temperatura para monitorizar la temperatura de medida.



**Figura 69.** Unidad optoelectrónica y módulo de sensores instalados en la EDAR de Guadalete para la monitorización de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$  en biometano.

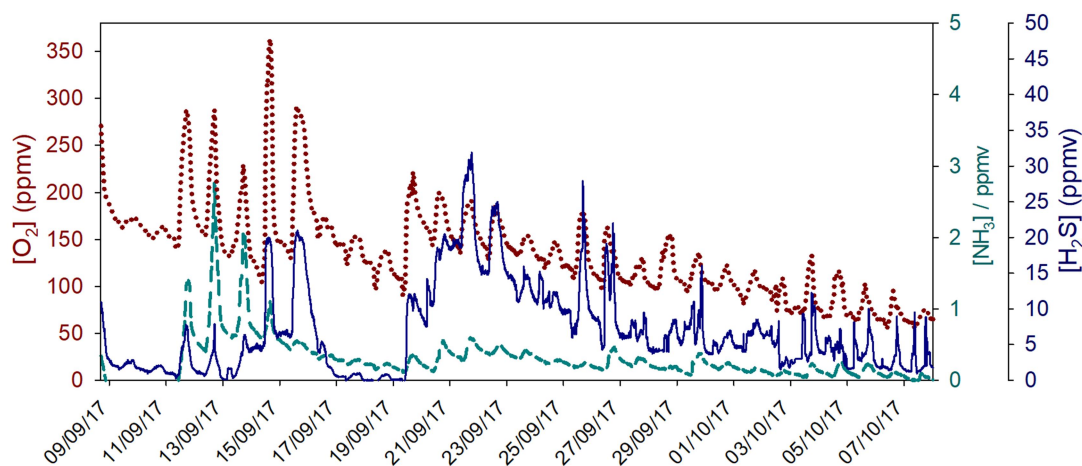
El módulo de sensores consta de dos celdas de medida (una de acero inoxidable y otra de cloruro de polivinilo) con dos canales cada una de ellas, donde se instalan las membranas sensoras. Cada canal está conectado con la unidad optoelectrónica a través de una fibra óptica. Además, dispone de un sistema de control de presión y caudal de muestra, que permite operar en un intervalo de presión y caudal de 0–2 bar y 50–200 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente.

El sistema OSA permaneció instalado en la cabina de control de la EDAR durante seis meses, con dos líneas independientes de biometano, una para cada celda de medida, y una línea de gas de referencia ( $N_2$ ). La frecuencia de adquisición de datos de desfase de luminiscencia y temperatura de cada canal fue establecida cada seis minutos. A partir de esos datos, se determinaron las concentraciones de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$ , por interpolación en las superficies de calibración obtenidas para cada sensor. La unidad optoelectrónica demostró una gran estabilidad y un funcionamiento óptimo durante todo el periodo de medidas.

En la Figura 70 se muestran los niveles de concentración de  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$  registrados a lo largo de un mes. Se observaron mayores niveles de  $O_2$ ,  $H_2S$ ,  $NH_3$  durante los periodos de operación de la planta de producción de biometano. Fuera de dicho horario, el biometano procede del sistema de almacenamiento donde la concentración de estos analitos es inferior.

Los tres sensores luminiscentes exhibieron una progresiva pérdida de sensibilidad a lo largo del tiempo, provocada por la co-adsorción de otras sustancias en los soportes inorgánicos tipo sílice, empleados en la fabricación de las membranas sensoras. En base a los primeros resultados obtenidos, se decidió, por un lado, sustituir las membranas sensoras en periodos de

tiempo más cortos (7–10 días) para estimar la durabilidad de los sensores, a través de la calibración de las membranas sensoras antes y después de su instalación. La pérdida de sensibilidad de los sensores era notable a partir de los siete días de medidas continuadas, por lo que se propuso la sustitución semanal de los materiales luminiscentes sensores. Por otro lado, se propusieron y ensayaron medidas para aumentar la estabilidad de las membranas sensoras.



**Figura 70.** Monitorización en continuo de la concentración de  $O_2$  (.....),  $H_2S$  (—) y  $NH_3$  (— — —) en la planta de producción de biometano en Jerez de la Frontera, con los sensores luminiscentes desarrollados.

Con respecto al sensor de  $O_2$ , se decidió incorporar una membrana protectora de poli(1-trimetilsilil-1-propino), que permitiera aumentar su estabilidad y durabilidad, evitando el acceso y la co-adsorción de otras sustancias en el gel de sílice. La incorporación de la segunda membrana no alteró la sensibilidad del sensor, pero sí provocó un ligero aumento del tiempo de respuesta y recuperación del sensor de  $O_2$  (~ 60 s). Se instalaron dos membranas sensoras de  $O_2$ , una de ellas con la membrana protectora, y se evaluó la estabilidad de los sensores tras quince días de medidas continuas. Una vez retirados los terminales sensibles del módulo de sensores y recalibrados en el laboratorio, se observó cómo el terminal con membrana protectora había experimentado una menor pérdida de sensibilidad (50 % de pérdida de sensibilidad con respecto a un 90 % en el caso del sensor sin membrana protectora), demostrando ser una alternativa viable para aumentar la durabilidad del sensor de  $O_2$ . Por otro lado, se decidió instalar la membrana sensora RB3/SCX, que se había mantenido como segunda opción. Dicho sensor, fabricado con un soporte inorgánico diferente, mostró una mejor estabilidad y una menor pérdida de sensibilidad (20 %). La parada de la planta de producción de biometano impidió realizar más pruebas.

La pérdida de sensibilidad del sensor de  $H_2S$  fue resuelto gracias a la instalación de un sistema de limpieza, activado cada seis horas por la propia electrónica del sistema OSA, lo que permitía restablecer por completo la sensibilidad del sensor. El ciclo de limpieza consistía en un

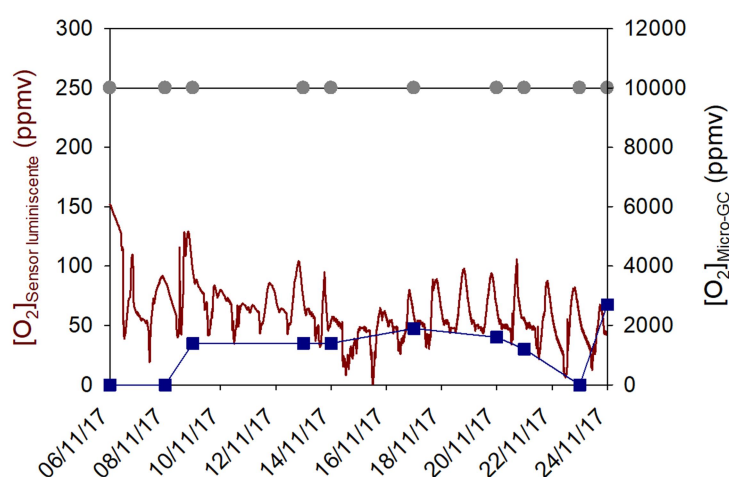
primer lavado del terminal con una disolución diluida de hidróxido sódico, el posterior arrastre de los restos de la disolución con etanol, y finalmente el secado de la membrana sensora con una corriente de N<sub>2</sub>. En estas condiciones, el sensor de H<sub>2</sub>S es capaz de funcionar sin pérdida de sensibilidad y con gran estabilidad durante meses.

La estabilidad del sensor de NH<sub>3</sub> fue mayor que el resto de membranas sensoras. En el mismo periodo de tiempo (15 días), mientras que los sensores de O<sub>2</sub> y de H<sub>2</sub>S experimentaron una pérdida de sensibilidad del 90 y 100 %, respectivamente, el sensor de NH<sub>3</sub>, exhibió una pérdida del 60 %. Por falta de tiempo no fue posible llevar a cabo pruebas con membranas protectoras o sistemas de limpieza para aumentar la durabilidad del sensor.

## 5.1. Validación de los sensores en la planta de producción de biometano

La validación *in situ* de los sensores luminiscentes desarrollados no pudo llevarse a cabo de manera satisfactoria dada la ausencia de análisis fiables, sistemáticos y frecuentes por métodos establecidos.

Las medidas de O<sub>2</sub> llevadas a cabo con el sensor luminiscente se pretendían comparar con los valores puntuales de concentración proporcionados por dos micro-cromatógrafos de gases (Agilent) instalados en la caseta de control.

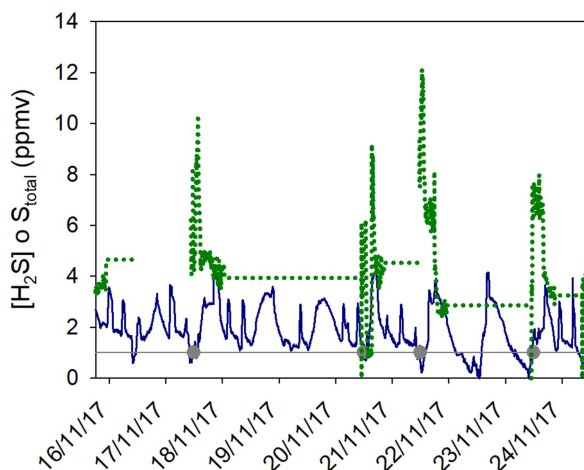


**Figura 71.** Medidas de O<sub>2</sub> llevadas a cabo en la planta de producción de biometano por el sensor luminiscente (—), y por dos cromatógrafos de gases Agilent (● y ■) instalados todos en la caseta de control.

Como se observa en la Figura 71, los valores de concentración proporcionados por los tres equipos resultaron ser muy diferentes, por lo que no se pudieron comparar para llevar a cabo la validación. Mientras que los cromatógrafos de gases midieron valores de O<sub>2</sub> muy elevados (10000 y ~ 2000 ppmv), el sensor luminiscente registró un nivel de concentración de 50–150

ppmv de  $O_2$ . El único valor de referencia que se obtuvo del  $O_2$  fue de una analítica externa llevada a cabo de una muestra de biometano recogida el 27/12/2017, que muestra una buena correlación con la concentración de  $O_2$  proporcionada por el OSA Optical Sensor System.

Para la validación del sensor de  $H_2S$ , se compararon las medidas llevadas a cabo por el sensor luminiscente con los valores de concentración proporcionados por dos sistemas de medida on-line: un cromatógrafo de gases (Agilent) y un analizador colorimétrico de cinta de acetato de plomo (Innov Analysis System) (Figura 72).

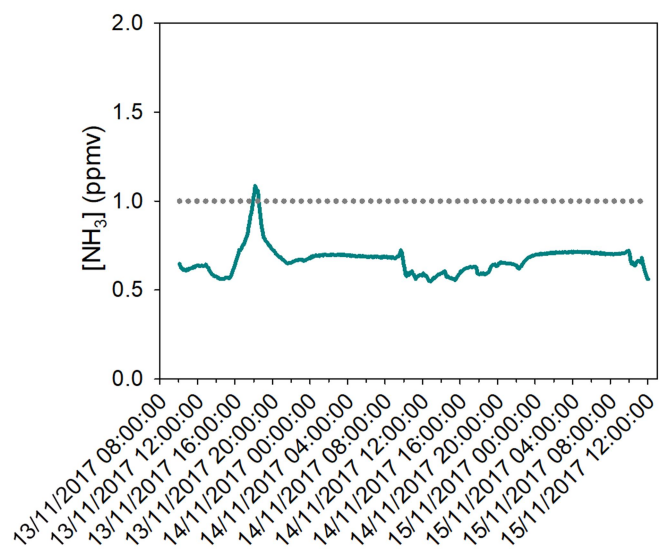


**Figura 72.** Medidas de  $H_2S$  llevadas a cabo en la planta de producción de biometano por el sensor luminiscente ( $\text{—}$ ), por un cromatógrafo de gases Agilent ( $\bullet$ ) y un analizador colorimétrico ( $\cdots$ ), instalados todos en la caseta de control.

Aunque se observó una buena coincidencia entre los valores de  $H_2S$  registrados por el cromatógrafo de gases y por el OSA Optical Sensor System, no se pudo llevar a cabo la validación analítica por las pocas medidas registradas. En el caso del analizador colorimétrico, los resultados registrados fueron mayores debido a que el equipo se configuró para medir azufre total. En este modo de operación, el equipo transforma todos los compuestos de azufre en  $H_2S$  en un horno reductor catalítico, por lo que los valores de concentración registrados corresponden no solo al  $H_2S$  de la muestra, sino a otros gases como los mercaptanos ( $RSH$ ) o el sulfuro de carbonilo ( $COS$ ).

En el caso del sensor luminiscente de  $NH_3$  no se pudo llevar a cabo la validación analítica al no contar con un dispositivo de medida de características analíticas semejantes al sensor luminiscente desarrollado en nuestro laboratorio. El sensor electroquímico CTX300 (Oldham) instalado en la cabina de control disponía de un límite de detección superior (1 ppmv) y una resolución (1 ppmv) inferior al sensor luminiscente. Como se observa en la Figura 73, los niveles de concentración registrados durante los días 13, 14 y 15 de noviembre son inferiores al LOD del detector electroquímico. Mientras que el sensor luminiscente, con un LOD de 0.15

ppmv, registró valores de 0.6 a 1.05 ppmv de NH<sub>3</sub>, el sensor electroquímico, dada su resolución, registró una concentración de 1 ppmv de NH<sub>3</sub>.



**Figura 73.** Medidas de NH<sub>3</sub> llevadas a cabo en la planta de producción de biometano por el sensor luminiscente (—) y por el detector electroquímico CTX300 (Oldham), instalados todos en la caseta de control.







# Conclusiones

---



El sistema OSA Optical Sensor System desarrollado y fabricado en nuestros laboratorios ha demostrado con éxito su utilidad para la monitorización en continuo, en tiempo real e *in situ* de tres parámetros de calidad química del biometano ( $O_2$ ,  $H_2S$  y  $NH_3$ ), en una planta de producción situada en la EDAR de Guadalete.

La sencilla instalación, el fácil manejo y el escaso, sencillo y rápido mantenimiento del equipo (únicamente el reemplazo de las membranas sensoras), junto con su coste asequible, gracias al empleo de una única unidad optoelectrónica para la monitorización de más de un parámetro, posicionan a esta tecnología de medida como una prometedora alternativa entre los sensores disponibles actualmente.

## Sensor de $O_2$

1. La combinación de complejos de Ru(II) con ligandos poliazaaromáticos de conjugación extensa, como indicadores, con soportes inorgánicos tipo sílice con gran capacidad adsorbente, resultó en membranas sensoras con una sensibilidad y unos límites de detección, no logrados hasta el momento con este tipo de complejos.
2. Los indicadores basados en complejos de Ru(II) con grupos pireno unidos covalentemente a los ligandos poliazaaromáticos quelatantes, no resultaron ser una buena opción para la fabricación de membranas sensoras, por su escasa sensibilidad al  $O_2$  una vez inmovilizados en soportes poliméricos.
3. Las membranas sensoras de  $O_2$ , basadas en los indicadores RB3 y RD3 y los soportes inorgánicos S5130 y SCX, presentaron unas características analíticas óptimas para la determinación de  $O_2$  en biometano: alta sensibilidad, excelente selectividad, amplio intervalo de medida (cuatro órdenes de magnitud), excelente estabilidad en laboratorio y tiempos de respuesta y recuperación cortos.
4. El sensor luminiscente RB3/S5130 se empleó con éxito para la monitorización de  $O_2$  en continuo en una planta de producción de biometano. Sin embargo, la limitada estabilidad del sensor en campo, asociada a la contaminación del soporte inorgánico con otros gases de la muestra, obligó a sustituir la membrana sensora semanalmente.
5. El empleo de membranas protectoras o la sustitución de la membrana sensora RB3/S5130 por otra, fabricada con un soporte polimérico diferente (RB3/SCX), resultaron ser medidas prometedoras para aumentar la durabilidad operacional del sensor de  $O_2$ .

6. La validación *in situ* del sensor luminiscente no pudo llevarse a cabo debido a la poca fiabilidad y a la discrepancia de las medidas puntuales de O<sub>2</sub> llevadas a cabo por los dispositivos de medida de referencia (cromatógrafo de gas con detector de conductividad térmica (GC-TCD)), probablemente también afectados por la contaminación de otras especies de la matriz. El único valor de O<sub>2</sub> de referencia fiable se obtuvo de una analítica externa, y coincidió con el valor de O<sub>2</sub> medido con el OSA Optical Sensor System.
7. El sensor de O<sub>2</sub> se puede considerar una buena alternativa a otros dispositivos de medida (potenciométricos, amperométricos, quimio-resistivos, paramagnéticos, GC-TCD) para la monitorización *in situ*, en tiempo real y en continuo del O<sub>2</sub> en biometano. No obstante, la limitada estabilidad del sensor, común a otros dispositivos de medida, aún debe ser mejorada.

## Sensor de H<sub>2</sub>S

1. El empleo de complejos de Ru(II) de carácter fotooxidante inmovilizados en materiales síliceos, condujo a la obtención de un novedoso sensor de H<sub>2</sub>S basado en un mecanismo fotoquímico de transferencia electrónica fotoinducida, nunca antes descrito en la bibliografía o empleado para la determinación de estos analitos en fase gaseosa.
2. La membrana sensora basada en el complejo de Ru(II) RP2T inmovilizado en microesferas de sílice tratadas con NaOH, mostró unas características analíticas óptimas para la determinación de H<sub>2</sub>S en biometano en los niveles de concentración recogidos en la actual normativa europea. La interferencia del O<sub>2</sub> en el sensor de H<sub>2</sub>S, en concentraciones superiores a 100 ppmv, fue resuelto gracias a la corrección de la señal analítica a través de la superficie de calibración obtenida para el O<sub>2</sub>.
3. El sensor luminiscente de H<sub>2</sub>S demostró con éxito su utilidad para la monitorización en continuo de H<sub>2</sub>S en una planta de producción de biometano.
4. El sistema de limpieza automático, instalado para solventar los problemas iniciales de estabilidad de la membrana sensora de H<sub>2</sub>S, demostró ser eficaz frente a la contaminación el sensor, proporcionando una excelente estabilidad y durabilidad al sensor (> 6 meses).
5. Las medidas de H<sub>2</sub>S llevadas a cabo por el sensor luminiscente mostraron una excelente correlación con los valores proporcionados por un cromatógrafo de gases, instalado en la caseta de control. No obstante, las escasas medidas de H<sub>2</sub>S realizadas por el

cromatógrafo de gases impidió llevar a cabo una validación completa del sensor luminiscente.

6. El novedoso sensor de  $\text{H}_2\text{S}$  es una magnífica alternativa a los dispositivos de medida disponibles en la actualidad (GC-TCD, electroquímicos, ópticos), gracias a su elevada sensibilidad, buena selectividad, excelente estabilidad, fácil manejo, escaso mantenimiento y coste asequible.

### **Sensor de $\text{NH}_3$**

1. El empleo de complejos de  $\text{Ru(II)}$  de carácter fotoácido inmovilizados en soportes inorgánicos síliceos con gran capacidad adsorbente, condujo a la obtención de membranas sensoras de  $\text{NH}_3$  de elevada sensibilidad y bajos límites de detección y cuantificación.
2. La membrana sensora fabricada a partir de la inmovilización del indicador RS2D2PYIM en microesferas de sílice tratadas con  $\text{HCl}$ , exhibió unas características analíticas adecuadas, para la monitorización de  $\text{NH}_3$  en biometano, combinando la necesaria sensibilidad con unos tiempos de respuesta y recuperación relativamente cortos.
3. La interferencia del  $\text{O}_2$  en el sensor de  $\text{NH}_3$  fue resuelta gracias a la corrección de la señal analítica a través de la superficie de calibración obtenida para el  $\text{O}_2$ .
4. El sensor luminiscente de  $\text{NH}_3$  operó con éxito en una planta de producción de biometano. Sin embargo, la limitada estabilidad del sensor obligó a sustituir la membrana sensora semanalmente.
5. La ausencia de análisis sistemáticos y frecuentes de  $\text{NH}_3$ , por parte de un dispositivo de medida válido, impidió la validación completa del sensor de  $\text{NH}_3$  durante el periodo de medidas en campo.
6. El sensor luminiscente de  $\text{NH}_3$  desarrollado puede ser una buena alternativa a otros dispositivos de medida que puedan ser caros y complejos, o poco selectivos o de lenta respuesta al  $\text{NH}_3$ . No obstante, la limitada estabilidad del sensor debería ser mejorada.



# Bibliografía

---





- [1] Gomez, C.D.C. Biogas as an energy option: an overview. En *The biogas handbook: science, production and applications*; Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D., Ed.; Woodhead Publishing: United Kingdom, 2013; pp 1–16.
- [2] [https://elpais.com/economia/2017/06/15/actualidad/1497549339\\_364862.html](https://elpais.com/economia/2017/06/15/actualidad/1497549339_364862.html) Accedido el 19 de junio de 2019.
- [3] <https://www.lavanguardia.com/vida/20170418/421772028831/biogas-cuando-desechos-impulsan-vehiculos-brl.html> Accedido el 19 de junio de 2019.
- [4] Biosantech, T.A.S.; Drosch, B.; Fuchs, W.; Rutz, D.; Wip, R.J. Biogas digestate quality and utilization. En *The biogas handbook: science, production and applications*; Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D., Ed.; Woodhead Publishing: United Kingdom, 2013; pp 267–301.
- [5] Scarlat, N.; Dallemand J.-G.; Fahl, F.; Biogas: Developments and perspectives in Europe. *Renew. Energ.* **2018**, *129*, 457–472.
- [6] DIRECTIVE 2009/28/EC of the European parliament and of the council on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing directives 2001/77/EC and 2003/30/EC, 2009.
- [7] COM(2011) 112 final, A roadmap for moving to a competitive low carbon economy in 2050. Communication from the commission to the European parliament, the council, the European economic and social committee and the committee of the regions, 2012.
- [8] COM(2016) 767 final/2, Proposal for a directive of the European parliament and of the council on the promotion of the use of energy from renewable sources (Recast), 2017.
- [9] Thrän, D.; Billig, E.; Persson, T.; Svensson, M.; Daniel-Gromke, J.; Ponitka, J.; Seiffert, M.; Baldwin, J.; Kranzl, L.; Schipfer, F.; Matzenberger, J.; Devriendt, N.; Dumont, M.; Dahl, J.; Bochmann, G. *Biomethane - Status and factors affecting market development and trade*; IEA Bioenergy, 2014.
- [10] Li, H.; Mehmood, D.; Thorin, E.; Yu, Z. Biomethane production via anaerobic digestion and biomass gasification. *Energy Procedia* **2017**, *105*, 1172–1177.
- [11] Biosantech, T.A.S.; Rutz, D.; Wip, R.J.; Drosch, B. Biomass resources for biogas production. En *The biogas handbook: science, production and applications*; Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D., Ed.; Woodhead Publishing: United Kingdom, 2013; pp 19–51.
- [12] Ramírez, M.; Gómez, J.M.; Cantero, D. Biogas: sources, purification and uses. En *Hydrogen and other technologies*; Sharma, U.C., Kumar, S., Prasad, R., Ed.; Studium Press LLC: USA, 2015, pp 296–323.
- [13] <http://www.planet-biogas.co.uk/info/>. Accedido el 2 de noviembre de 2018.

- [14] Molino, A.; Chianese, S.; Musmarra, D. Biomass gasification technology: the state of the art overview. *J. Energy Chem.* **2016**, *25*, 10–25.
- [15] Kopyscinski, J.; Schildhauer, T.J.; Biollaz, S.M.A. Production of synthetic natural gas (SNG) from coal and dry biomass - A technology review from 1950 to 2009. *Fuel* **2010**, *89*, 1763–1783.
- [16] Ahrenfeldt, J.; Jørgensen, B.; Thomsen, T.P. Bio-SNG potential assessment: Denmark 2020; Denmark, 2010. <http://orbit.dtu.dk/files/5237878/ris-r-1754.pdf> Accedido el 4 de noviembre de 2018.
- [17] *Gases from non-conventional sources - Injection into natural gas grids - Requirements and recommendations*; CEN/TC 234; Technical Committee, 2011.  
[https://gasgov-mst-files.s3.eu-west-1.amazonaws.com/s3fs-public/ggf/CEN-TC408\\_N0010\\_CEN~TC\\_234~WG\\_9\\_Contribution\\_to\\_CEN~TC\\_408\\_.pdf](https://gasgov-mst-files.s3.eu-west-1.amazonaws.com/s3fs-public/ggf/CEN-TC408_N0010_CEN~TC_234~WG_9_Contribution_to_CEN~TC_408_.pdf) Accedido el 2 de noviembre de 2018.
- [18] Muñoz, R.; Meier, L.; Diaz, D. A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogás upgrading. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **2015**, *14*, 727–759.
- [19] Petersson, A.; Wellinger, A. *Biogas upgrading technologies, developments and innovations*; IEA Bioenergy: Paris, 2009.
- [20] Beil, M.; Beyrich, W. Biogas upgrading to biomethane. En *The biogas handbook: science, production and applications*; Wellinger, A.; Murphy, J.; Baxter, D., Ed.; Woodhead Publishing: United Kingdom, 2013; pp 342–377.
- [21] *Natural gas and biomethane for use in transport and biomethane for injection in the natural gas network - Part 1: Specifications for biomethane for injection in the natural gas network*; EN 16723-1; European Organization for Standardization, 2016.
- [22] *Natural gas and biomethane for use in transport and biomethane for injection in the natural gas network - Part 2: Automotive fuels specifications*; EN 16723-2; European Organization for Standardization, 2017.
- [23] *Gas infrastructure - Quality of gas - Group H*; EN 16726; European Organization for Standardization, 2015.
- [24] Shuk, P. Oxygen gas sensing technologies application: a comprehensive review. En *Sensors for everyday life, smart sensors, measurement and instrumentation*; Mukhopadhyay, S., Postolache, O., Jayasundera, K., Swain, A., Ed.; Springer: Cham, 2017; pp 81–107.
- [25] Ramamoorthy, R.; Dutta, P.K.; Akbar, S.A. Oxygen sensors: materials, methods, designs and applications. *J. Mater. Sci.* **2003**, *38*, 4271–4282.
- [26] *Natural gas – Determination of composition with defined uncertainty by gas chromatography – Part 6: Determination of hydrogen, helium, oxygen, nitrogen, carbon dioxide and C1 to C8*

- hydrocarbons using three capillary columns*; EN 6974-6; International Organization for Standardization, 2002.
- [27] Gabriel, D.; Sierra, H. *Purificación y usos del biogás*; Servei de Publicacions de la Universitat Autònoma de Barcelona: Barcelona, 2017.
- [28] Isobe, K.; Koba, K.; Ueda, S.; Senoo, K.; Harayama, S.; Suwa, Y. A simple and rapid GC/MS method for the simultaneous determination of gaseous metabolites. *J. Microbiol. Methods* **2011**, *84*, 46–51.
- [29] Agilent Technologies, 490 Micro GC Biogas.  
<https://www.agilent.com/cs/library/datasheets/public/5990-9517EN.pdf> Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [30] Pasierb, P.; Rekas, M. Solid-state potentiometric gas sensors - Current status and future trends. *J. Solid State Electrochem.* **2009**, *13*, 3–25.
- [31] Ramamoorthy, R.; Dutta, P.K.; Akbar, S.A. Dependence of potentiometric oxygen sensing characteristics on the nature of electrodes. *Sens. Actuators B: Chem.* **2006**, *113*, 162–168.
- [32] Dunst, K.; Jasinski, G.; Jasinski, P. Potentiometric oxygen sensor with solid state reference electrode. *Metrol. Meas. Syst.* **2014**, *2*, 205–216.
- [33] Schelter, M.; Zosel, J.; Oelßner, W.; Guth, U.; Mertig, M. A solid electrolyte sensor for trace gas analysis. *Sens. Actuators B: Chem.* **2013**, *187*, 209–214.
- [34] Iio, A.; Ikeda, H.; Anggraini, S.A.; Miura, N. Potentiometric YSZ-based oxygen sensor using BaFeO<sub>3</sub> sensing-electrode. *Electrochem. Commun.* **2014**, *48*, 134–137.
- [35] Tanaka, Y.; Sato, T.; Ikeda, H.; Miura, N. Cobalt-based solid reference-electrode usable in zirconia-based sensors for detection of oxygen or volatile organic compounds. *Sens. Actuators B: Chem.* **2014**, *203*, 899–903.
- [36] Rosemount, 6888 In-Situ Oxygen Transmitter.  
<https://www.emerson.com/documents/automation/product-data-sheet-rosemount-6888-in-situ-oxygen-transmitter-en-1585730.pdf> Accedido el 5 de noviembre de 2018.
- [37] Akmal, N.; Lauer, J. Electrochemical oxygen sensors: principles and applications. En *Polymers in sensors*; Akmal, N., Usmani, A.M., Ed.; ACS Symposium Series, vol. 690, 1998; pp 149–160.
- [38] <http://www.draeger.com/> Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [39] Wang, C.; Yin, L.; Zhang, L.; Xiang, D.; Gao, R. Metal oxide gas sensors: sensitivity and influencing factors. *Sensors* **2010**, *10*, 2088–2106.
- [40] Misra, S. Electrical conductivity and oxygen sensing behavior of SrZr<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3-δ</sub> (x = 0 to 0.2) ceramics. *Mater. Chem. Phys.* **2017**, *190*, 1–7.

- [41] Neri, G.; Bonavita, A.; Micali, G.; Rizzo, G.; Pinna, N.; Niederberger, M.  $\text{In}_2\text{O}_3$  and  $\text{Pt-In}_2\text{O}_3$  nanopowders for low temperature oxygen sensors. *Sens. Actuators B: Chem.* **2007**, *127*, 455–462.
- [42] Sari, W.; Smith, P.; Leigh, S.; Covington, J. Oxygen sensors based on screen printed platinum and palladium doped indium oxides. *Proceedings* **2017**, *1*, 401.
- [43] Systech Illinois. Paramagnetic analyzer PM 700.  
<https://www.systechillinois.com/assets/uploads/products/PM700-process-oxygen-analyser/PM700%20U.S.pdf> Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [44] Kovacich, R.P.; Martin, N.A.; Clift, M.G.; Stocks, C.; Gaskin, I.; Hobby, J. Highly accurate measurement of oxygen using a paramagnetic gas sensor. *Meas. Sci. Technol.* **2006**, *17*, 1579–1585.
- [45] [http://www.systechillinois.com/en/paramagnetic-cells\\_54.html](http://www.systechillinois.com/en/paramagnetic-cells_54.html). Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [46] MICHELL Instruments. Analizador de oxígeno XTP601.  
[http://www.michell.com/es/documents/XTP601\\_97314\\_ES\\_Datasheet-V5-1.pdf](http://www.michell.com/es/documents/XTP601_97314_ES_Datasheet-V5-1.pdf) Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [47] Creus Solé, A. *Instrumentación industrial*, 7th ed.; Marcombo: Barcelona, 2005.
- [48] Siemens. Analizador de gases paramagnético OXYMAT 6. <http://www.raeco.com/products/gas-analyzers/Siemens-Oxymat-61/Siemens-Oxymat61-ds-14-05.pdf> y [https://www.automation.siemens.com/sc-static/catalogs/catalog/pa/PA01/es/PA01\\_es\\_Kap01.pdf](https://www.automation.siemens.com/sc-static/catalogs/catalog/pa/PA01/es/PA01_es_Kap01.pdf) Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [49] Siemens, espectrómetro diodo láser SITRANS.  
<https://mall.industry.siemens.com/mall/en/WW/Catalog/Products/10042902?tree=CatalogTree#Technical%20specifications> Accedido el 5 de noviembre de 2018.
- [50] Lackner, M. Tunable diode laser absorption spectroscopy (TDLAS) in the process industries - A review. *Rev. Chem. Eng.*, **2011**, *23*, 65–147.
- [51] Valeur, B.; Berberan-Santos, M.N. *Molecular fluorescence, principles and applications*, 2nd ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012.
- [52] Urriza-Arsuaga, I.; Ielasi, G.; Bedoya, M.; Orellana, G. Luminescence-based sensors for bioprocess applications. En *Fluorescence in industry*; Pedras, B., Ed.; Springer Ser. on Fluorescence: Berlin, 2019; pp 1–38.
- [53] Quaranta, M.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Indicators for optical oxygen sensors. *Bioanal. Rev.* **2012**, *4*, 115–157.
- [54] Wang, X.; Wolfbeis, O.S. Optical methods for sensing and imaging of oxygen: materials, spectroscopies and applications. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 3666–3761.

- [55] Borisov, S.M.; Seifner, R.; Klimant, I. A novel planar optical sensor for simultaneous monitoring of oxygen, carbon dioxide, pH and temperature. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *400*, 2463–2474.
- [56] Borisov, S.M.; Klimant, I. New luminescent oxygen-sensing and temperature-sensing materials based on gadolinium(III) and europium(III) complexes embedded in an acridone-polystyrene conjugate. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *404*, 2797–2806.
- [57] Liu, C.; Yu, H.; Rao, X.; Lv, X.; Jin, Z.; Qiu, J. Bis-cyclometalated Ir(III) complexes with a diphenylamino group: design, synthesis, and application in oxygen sensing. *Dyes Pigments*, **2017**, *136*, 641–647.
- [58] Amao, Y.; Okura, I. Optical oxygen sensing materials: chemisorption film of ruthenium(II) polypyridyl complexes attached to anionic polymer. *Sens. Actuators B: Chem.* **2003**, *88*, 162–167.
- [59] Higgins, C.; Wencel, D.; Burke, C.S.; MacCraith, B.D.; McDonagh, C. Novel hybrid optical sensor materials for in-breath O<sub>2</sub> analysis. *Analyst* **2008**, *133*, 241–247.
- [60] Roche, P.; Al-Jowder, R.; Narayanaswamy, R.; Young, J.; Scully, P. A novel luminescent lifetime-based optrode for the detection of gaseous and dissolved oxygen utilising a mixed ormosil matrix containing ruthenium (4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub> (Ru.dpp). *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 1245–1257.
- [61] Payne, S.J.; Fiore, G.L.; Fraser, C.L.; Demas, J.N. Luminescence oxygen sensor based on a ruthenium(II) star polymer complex. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 917–921.
- [62] Borisov, S.M.; Lehner, P.; Klimant, I. Novel optical trace oxygen sensors based on platinum(II) and palladium(II) complexes with 5,10,15,20-*meso*-tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)-porphyrin covalently immobilized on silica-gel particles. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *690*, 108–115.
- [63] Mao, Y.; Zhao, Q.; Wu, J.; Pan, T.; Zhou, B.; Tian, Y. A highly sensitive and fast-responding oxygen sensor based on POSS-containing hybrid copolymer films. *J. Mat. Chem. C* **2017**, *5*, 11395–11402.
- [64] Mao, Y.; Gao, Y.; Wu, S.; Wu, S.; Shi, J.; Zhou, B.; Tian, Y. Highly enhanced sensitivity of optical oxygen sensors using microstructured PtTFPP/PDMS-pillar arrays sensing layer. *Sens. Actuators B: Chem.* **2017**, *251*, 495–502.
- [65] Nagl, S.; Baleizão, C.; Borisov, S.M.; Schäferling, M.; Berberan-Santos, M.N.; Wolfbeis, O.S. Optical sensing and imaging of trace oxygen with record response. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2317–2319.
- [66] Kochmann, S.; Baleizão, C.; Berberan-Santos, M.N.; Wolfbeis, O.S. Sensing and imaging of oxygen with parts per billion limits of detection and based on the quenching of the delayed fluorescence of <sup>13</sup>C<sub>70</sub> fullerene in polymer hosts. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 1300–1304.

- [67] Lehner, L.; Staudinger, C.; Borisov, S.M.; Klimant, I. Ultra-sensitive optical oxygen sensors for characterization of nearly anoxic systems. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4460.
- [68] Orellana, G.; Moreno-Bondi, M.C.; Garcia-Fresnadillo, D.; Marazuela, M.D. The interplay of indicator, support and analyte in optical sensor layers. En *Frontiers in chemical sensors*; Orellana, G., Moreno-Bondi, M.C., Ed.; Springer Ser. Chem. Sens. Biosens.: Berlin, 2005; pp 189–225.
- [69] Brandrup, J.; Immergut, E.H.; Grulke, E.A. *Polymer handbook*; Wiley: New York, 1999.
- [70] Korotcenkov, G. *Handbook of gas sensor materials*; Springer: New York, 2014.
- [71] Orellana, G.; López-Gejo, J.; Pedras, B. Silicone films for fiber-optic chemical sensing. En *Concise encyclopedia of high performance silicones*; Tiwari, A., Soucek, M.D., Ed.; Wiley-Scrivener: Beverly, 2014; pp 339–354.
- [72] Khotimsky, V.S.; Tchirkova, M.V.; Litvinova, E.G.; Rebrov, A.I.; Bondarenko, G.N. Poly[1-(trimethylgermyl)-1-propyne] and poly[1-(trimethylsilyl)-1-propyne] with various geometries: their synthesis and properties. *J. Polym. Sci. Part A: Polymer Chem.* **2003**, *41*, 2133–2155.
- [73] López-Gejo, J.; Haigh, D.; Orellana, G. Relationship between the microscopic and macroscopic world in optical oxygen sensing: a luminescence lifetime microscopy study. *Langmuir* **2010**, *26*, 2144–2150.
- [74] Xavier, M.P.; García-Fresnadillo, D.; Moreno-Bondi, M.C.; Orellana, G. Oxygen sensing in nonaqueous media using porous glass with covalently bound luminescent Ru (II) complexes. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 5184–5189.
- [75] Crayston, J.A. Sol-Gel. *Comprehensive Coordination Chemistry II*, 2003, *1*, 711–730.
- [76] Tang, Y.; Tehan, E.C.; Tao, Z.; Bright, F.V. Sol-gel-derived sensor materials that yield linear calibration plots, high sensitivity, and long-term stability. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 2407–2413.
- [77] López-Gejo, J.; Arranz, A.; Navarro, A.; Palacio, C.; Muñoz, E.; Orellana, G. Microsensors based on GaN semiconductors covalently functionalized with luminescent Ru (II) complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1746–1747.
- [78] López-Gejo, J.; Navarro-Tobar, A.; Arranz, A.; Palacio, C.; Muñoz, E.; Orellana, G. Direct grafting of long-lived luminescent indicator dyes to GaN light-emitting diodes for chemical microsensor development. *Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 3846–3854.
- [79] Ielasi, G.; Hui, P.; Palacio, C.; Muñoz, E.; Orellana, G. Silane control of the electron injection and oxygen sensitivity of dye-silane-GaN hybrid materials for luminescent chemical sensing. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, *254*, 926–934.
- [80] Farooq, A.; Al-Jowder, R.; Narayanaswamy, R.; Azzawi, M.; Roche, P.J.R.; Whitehead, D.E. Gas detection using quenching fluorescence of dye-immobilized silica nanoparticles. *Sens. Actuators B: Chem.* **2013**, *183*, 230–238.

- [81] Banerjee, S.; Kuznetsova, R.T.; Papkovsky, D.B. Solid-state oxygen sensors based on phosphorescent diiodo-borondipyrromethene dye. *Sens. Actuators B: Chem.* **2015**, *212*, 229–234.
- [82] Fuji Electric, In-Situ Zirconia Oxygen Analyzer (ZKM1, ZKM2, ZFK8).  
[https://www.fujielectric.com/products/instruments/products/anlz\\_gas/ZFK8\\_ZKM\\_ZTA.html](https://www.fujielectric.com/products/instruments/products/anlz_gas/ZFK8_ZKM_ZTA.html)  
 Accedido el 5 de noviembre de 2018
- [83] Mettler Toledo, Oxygen Sensor InPro6950iG/12/120.  
<https://www.mt.com/us/en/home/products/Process-Analytics/gas-analyzer/amperometric-sensor/oxygen-sensor-inpro-6950iG-12-120.html> Accedido el 5 de noviembre de 2018.
- [84] Dräger, DrägerSensor XXS.  
[http://martechcontrols.com/upload\\_file/DraegerElectrochemicalSensors.lit.ETA.0315.pdf](http://martechcontrols.com/upload_file/DraegerElectrochemicalSensors.lit.ETA.0315.pdf)  
 Accedido el 5 de noviembre de 2018.
- [85] Mettler Toledo, Oxygen Gas Analyzer GPro 500.  
<https://www.mt.com/sg/en/home/products/Process-Analytics/gas-analyzer/Tunable-Diode-Laser-TDL/oxygen-sensor-GPro-500.html> Accedido el 5 de noviembre de 2018.
- [86] Presens Fibox & OXY sensor PSi9.  
[https://www.presens.de/fileadmin/user\\_upload/brochures/180517\\_char\\_Presens\\_O2\\_Broschuer\\_e\\_01-18\\_dv2\\_web\\_2.pdf](https://www.presens.de/fileadmin/user_upload/brochures/180517_char_Presens_O2_Broschuer_e_01-18_dv2_web_2.pdf) Accedido 10 de noviembre de 2018.
- [87] OceanOptics, NeoFox Probe FOSFOR Formulation. [http://www.lao.cz/data/kestazeni/sensors\\_lao\\_3\\_.pdf](http://www.lao.cz/data/kestazeni/sensors_lao_3_.pdf) Accedido 10 de noviembre de 2018.
- [88] PyroScience, FireStingO<sub>2</sub>, <https://www.pyro-science.com/media/files/Firesting-O2-Flyer.pdf>  
 Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [89] SpectraSensors, OXY5500 OP-9.  
[https://www.spectrasensors.com/media/files/files/4a8b5d3c/DS\\_OXY5500.pdf](https://www.spectrasensors.com/media/files/files/4a8b5d3c/DS_OXY5500.pdf) Accedido el 10 de noviembre de 2018.
- [90] Centec, Oxytrans. <https://hyxo.fi/products/documents/5328434cc3e2b/oxytrans.pdf> Accedido 10 de noviembre 2018.
- [91] Guidotti, T.L. Hydrogen sulfide: advances in understanding human toxicity. *Int. J. Toxicol.* **2010**, *29*, 569–581.
- [92] World health organization (WHO). *Air quality guidelines for Europe*, 2nd ed.; WHO Regional Publications: Copenhagen, 2000.  
[http://www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0005/74732/E71922.pdf](http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0005/74732/E71922.pdf) PDF Accedido el 18 de noviembre de 2018.
- [93] Pandey, S.K.; Kim, K.-H.; Tang, K.-T. A review of sensor-based methods for monitoring hydrogen sulfide. *Trends Analyt Chem* **2012**, *32*, 87–99.



- [94] *Natural gas - Determination of sulfur compounds using gas chromatography*; ISO 19739; International Organization for Standardization, 2004.
- [95] Macák, J.; Kubát, J.; Dobal, V.; Mizera, J. Determination of sulphur compounds in natural gas by gas chromatography with a flame photometric detector. *J. Chromatogr. A* **1984**, 286, 69–78.
- [96] Andari, M.K.; Behbehani, H.; Qabazard, H. Database for organic sulfur compounds using GC-SCD method. Determination of sulfur containing compounds in straight run gas OBLs (SRGO). *Fuel Sci. Technol. Int.* **1996**, 14, 897–908.
- [97] Norio Miura, N.; Yan, Y.; Lu, G.; Yamazoe, N. Sensing characteristics and mechanism of hydrogen sulfide sensor using stabilized zirconia and oxide sensing electrode. *Sens. Actuators B: Chem.* **1996**, 34, 367–372.
- [98] Liang, X.; He, Y.; Liu, F.; Wang, B.; Zhong, T.; Quan, B.; Lu, G. Solid-state potentiometric H<sub>2</sub>S sensor combining NASICON with Pr<sub>6</sub>O<sub>11</sub>-doped SnO<sub>2</sub> electrode. *Sens. Actuators B: Chem.* **2007**, 125, 544–599.
- [99] Guan, Y.; Yin, C.; Cheng, X.; Liang, X.; Diao, Q.; Zhang, H.; Lu, G. Sub-ppmv H<sub>2</sub>S sensor based on YSZ and hollow balls NiMn<sub>2</sub>O<sub>4</sub> sensing electrode. *Sens. Actuators B: Chem.* **2014**, 193, 501–508.
- [100] Zhang, H.; Zhong, T.; Sun, R.; Liang, X.; Lu, G. Sub-ppmv H<sub>2</sub>S sensor based on NASICON and CoCr<sub>2-x</sub>Mn<sub>x</sub>O<sub>4</sub> sensing electrode. *RSC Adv.* **2014**, 4, 55334–55340.
- [101] Hao, X.; Ma, C.; Yang, X.; Liu, T.; Wang, B.; Liu, F.; Liang, X.; Yang, C.; Zhu, H.; Lu, G.; YSZ-based mixed potential H<sub>2</sub>S sensor using La<sub>2</sub>NiO<sub>4</sub> sensing electrode. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, 255, 3033–3039.
- [102] Zeng, L.; He, M.; Yu, H.; Li, D. An H<sub>2</sub>S sensor based on electrochemistry for chicken coops. *Sensors* **2016**, 16, 1398.
- [103] Wang, Y.; Yan, H.; Wang, E. The electrochemical oxidation and the quantitative determination of hydrogen sulfide on a solid polymer electrolyte-based system. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, 497, 163–167.
- [104] Yu, C.; Wang, Y.; Hua, K.; Xing, W.; Lu, T. Electrochemical H<sub>2</sub>S sensor with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pre-treated Nafion membrane as solid polymer electrolyte. *Sens. Actuators B: Chem.* **2002**, 86, 259–265.
- [105] Wang, Y.; Yan, H.; Wang, E. Solid polymer electrolyte-based hydrogen sulfide sensor. *Sens. Actuators B: Chem.* **2002**, 87, 115–121.
- [106] Yang, X.; Zhang, Y.; Hao, X.; Song, Y.; Liang, X.; Liu, F.; Liu, F.; Sun, P.; Gao, Y.; Yan, X.; Lu, G. Nafion-based amperometric H<sub>2</sub>S sensor using Pt-Rh/C sensing electrode. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, 273, 635–641.

- [107] O'Mahony, A.M.; Compton, R.G. The mediated detection of hydrogen sulfide in room temperature ionic liquids. *Electroanalysis* **2010**, *22*, 2313–2322.
- [108] Rogers, E.I.; O'Mahony, A.M.; Aldous, L.; Compton, R.G. Amperometric gas detection using room temperature ionic liquid solvents. *ECS Transactions* **2010**, *33*, 473–502.
- [109] Li, C.; Xue, H.; Zhu, Y.; Wang, Y. The enhanced H<sub>2</sub>S sensing behavior of Ag-doped porous SnO<sub>2</sub> nanopowders prepared by template method. *Adv. Mater. Res.* **2011**, *295-297*, 337–340.
- [110] Yoo, K.S.; Han, S.D.; Moon, H.G.; Yoon, S.-J.; Kang, C.-Y. Highly sensitive H<sub>2</sub>S sensor based on the metal-catalyzed SnO<sub>2</sub> nanocolumns fabricated by glancing angle deposition. *Sensors* **2015**, *15*, 15468–15477.
- [111] Llobet, E.; Brunet, J.; Pauly, A.; Ndiaye, A.; Varenne, C. Nanomaterials for the selective detection of hydrogen sulfide in air. *Sensors* **2017**, *17*, 391.
- [112] Gao, X.; Sun, Y.; Zhu, C.; Li, C.; Ouyang, Q.; Chen, Y. Highly sensitive and selective H<sub>2</sub>S sensor based on porous ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanosheets. *Sens. Actuators B: Chem.* **2017**, *246*, 662–672.
- [113] Ramgir, N.S.; Ganapathi, S.K.; Kaur, M.; Datta, N.; Muthe, K.P.; Aswal, D.K.; Gupta, S.K.; Yakhmi, J. V. Sub-ppmv H<sub>2</sub>S sensing at room temperature using CuO thin films. *Sens. Actuators B: Chem.* **2010**, *151*, 90–96.
- [114] Song, Z.; Wei, Z.; Wang, B.; Luo, Z.; Xu, S.; Zhang, W.; Yu, H.; Li, M.; Huang, Z.; Zang, J.; Yi, F.; Liu, H. Sensitive room-temperature H<sub>2</sub>S gas sensors employing SnO<sub>2</sub> quantum wire/reduced graphene oxide nanocomposites. *Chem. Mat.* **2016**, *28*, 1205–1212.
- [115] Kaur, M.; Dadhich, B.K.; Singh, R.; Ganapathi, K.; Bagwaiya, T.; Bhattacharya, S.; Debnath, A.K.; Muthe, K.P.; Gadkari, S.C. RF sputtered SnO<sub>2</sub>:NiO thin films as sub-ppmv H<sub>2</sub>S sensor operable at room temperature. *Sens. Actuators B: Chem.* **2017**, *242*, 389–403.
- [116] Mei, L.; Chen, Y.; Ma, J. Gas sensing of SnO<sub>2</sub> nanocrystals revisited: developing ultra-sensitive sensors for detecting the H<sub>2</sub>S leakage of biogas. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 6028.
- [117] Virji, S.; Fowler, J.D.; Baker, C.O.; Huang, J.; Kaner, R.B.; Weiller, B.H. Polyaniline nanofiber composites with metal salts: chemical sensors for hydrogen sulfide. *Small* **2005**, *1*, 624–627.
- [118] Shirsat, M.D.; Bangar, M.A.; Deshusses, M.A.; Myung, N.V.; Mulchandani, A. Polyaniline nanowires-gold nanoparticles hybrid network based chemiresistive hydrogen sulfide sensor. *Appl. Phys. Lett.* **2009**, *94*, 083502.
- [119] Peng, S.; Liang, J.; Mhaisalkar, S.G.; Ramakrishna, S. *In situ* synthesis of platinum/polyaniline composite counter electrodes for flexible dye-sensitized solar cells. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 5308–5311.

- [120] Zhang, Y.; Yin, J.; Wang, K.; Chen, P.; Ji, L. Electrocatalysis and detection of nitrite on a polyaniline-Cu nanocomposite-modified glassy carbon electrode. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *128*, 2971.
- [121] Mekki, A.; Joshi, N.; Singh, A.; Salmi, Z.; Jha, P.; Decorse, P.; Lau-Truong, S.; Mahmoud, R.; Chehimi, M.M.; Aswal, D.K.; Gupta, S.K. H<sub>2</sub>S sensing using in situ photo-polymerized polyaniline-silver nanocomposite films on flexible substrates. *Org. Electron.* **2014**, *15*, 71–81.
- [122] Sarfraz, J.; Ihalainen, P.; Määttänen, A.; Gulin, T.; Koskela, J.; Wilén, C.-E.; Kilpelä, A.; Peltonen, J. A printed H<sub>2</sub>S sensor with electro-optical response. *Sens. Actuators B: Chem.* **2014**, *191*, 821–827.
- [123] Wallace, K.J.; Cordero, S.R.; Tan, C.P.; Lynch, V.M.; Anslyn, E.V. A colorimetric response to hydrogen sulfide. *Sens. Actuators B: Chem.* **2007**, *120*, 362–367.
- [124] Sen, A.; Albarella, J.D.; Carey, J.R.; Kim, P.; McNamara, W.B. Low-cost colorimetric sensor for the quantitative detection of gaseous hydrogen sulfide. *Sens. Actuators B: Chem.* **2008**, *134*, 234–237.
- [125] Bather, W. Detector tube technology. *Sens. Update* **1998**, *4*, 82–107.
- [126] Tanaka, Y.; Nakamoto, T.; Moriizumi, T. Study of highly sensitive smell sensing system using gas detector tube combined with optical sensor. *Sens. Actuators B: Chem.* **2006**, *119*, 84–88.
- [127] Ninh, H.P.; Tanaka, Y.; Nakamoto, T.; Hamada, K. A bad-smell sensing network using gas detector tubes and mobile phone cameras. *Sens. Actuators B: Chem.* **2007**, *125*, 138–143.
- [128] Dräger, Dräger-Tubes & CMS-Handbook, fifteenth ed., Lübeck, 2008.  
<https://www.shopcross.com/sites/default/files/data-sheets/Draeger-Tube-Handbook-15th-edition.pdf> Accedido el 22 de noviembre de 2018.
- [129] Envent. H<sub>2</sub>S analyzer model 331S. <http://www.envent-eng.com/h2s-analyzer-model-331s/> Accedido el 22 de noviembre de 2018.
- [130] Engelhart, W.G. On-Line Monitoring of H<sub>2</sub>S in Refinery Gas Streams Using Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy (TDLAS). SpectraSensors,  
[https://www.spectrasensors.com/media/files/files/da951494/WP\\_On-line\\_monitoring\\_of\\_H2S\\_in\\_refinery\\_gas\\_streams\\_using\\_TDLAS.pdf](https://www.spectrasensors.com/media/files/files/da951494/WP_On-line_monitoring_of_H2S_in_refinery_gas_streams_using_TDLAS.pdf) Accedido el 22 de noviembre de 2018.
- [131] Applied Analytics. OMA-300 Hydrogen Sulfide Analyzer. <https://aai.solutions/oma-h2s-analyzer> Accedido el 22 de noviembre de 2018.
- [132] Axelrod, H.D.; Cary, J.H.; Bonelli, J.E.; Lodge, J.P. Fluorescence determination of sub-parts-per-billion hydrogen sulfide in the atmosphere. *Anal. Chem.* **1969**, *41*, 1856–1858.
- [133] Choi, M.M.F.; Hawkins P. Development of sulphide-selective optode membranes based on fluorescence quenching. *Anal. Chim. Acta* **1997**, *344*, 105–110.

- [134] Choi, M.M.F. Fluorimetric optode membrane for sulfide detection. *Analyst* **1998**, *123*, 1631–1634.
- [135] Ohira, S.; Toda, K. Micro gas analysis system for measurement of atmospheric hydrogen sulfide and sulfur dioxide. *Lab Chip* **2005**, *5*, 1374–1379.
- [136] da Silveira Petrucci, J.F; Cardoso, A.A. A portable and disposable paper-based fluorescent sensor for in situ gaseous hydrogen sulfide determination in near real-time. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 11714–11719.
- [137] Kohls, O.; Klimant, I.; Holstand, G.; Köhl, K. Thionine as an indicator for use as a hydrogen sulfide optode. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.* **1996**, *2836*, 311–321.
- [138] Lippert, A.R. Designing reaction-based fluorescent probes for selective hydrogen sulfide detection. *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *133*, 136–142.
- [139] da Silveira Petrucci, J.F; Cardoso, A.A. Sensitive luminescent paper-based sensor for the determination of gaseous hydrogen sulfide. *Anal. Methods* **2015**, *7*, 2687–2692.
- [140] Ma, F.; Sun, M.; Zhang, K.; Yu, H.; Wang, Z.; Wang, S. A. Turn-on fluorescent probe for selective and sensitive detection of hydrogen sulfide. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *879*, 104–110.
- [141] Song, R.; Hou, L.; Wang, Y.; Li, Y.; Wang, X.; Zang, Y.; Zang, Y.; Wang, X.; Yan, S. Fluorescence Zn-based metal-organic frameworks for the detection of hydrogen sulfide in natural gas. *Anal. Methods* **2017**, *9*, 3914–3919.
- [142] Yang, X.-F.; Zhu, H.-B.; Liu, M. Transition-metal-based ( $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ ) metal-organic frameworks as fluorescence “turn-off” sensors for highly sensitive and selective detection of hydrogen sulfide. *Inorg. Chim. Acta* **2017**, *466*, 410–416.
- [143] Ionescu, R.; Hoel, A.; Granqvist, C.G.; Llobet, E.; Heszler, P. Low-level detection of ethanol and  $\text{H}_2\text{S}$  with temperature-modulated  $\text{WO}_3$  nanoparticle gas sensors. *Sens. Actuators B: Chem.* **2005**, *104*, 132–139.
- [144] Agilent Technologies, 490 Micro GC Data Sheet. [http://www.ingenieria-analitica.com/downloads/dl/file/id/1415/product/238/490\\_micro\\_gc\\_solution\\_datasheet.pdf](http://www.ingenieria-analitica.com/downloads/dl/file/id/1415/product/238/490_micro_gc_solution_datasheet.pdf) Accedido el 29 de noviembre de 2018.
- [145] Siemens, SITRANS CV natural gas analyzer. [https://www.labandprocess.com/system/text\\_documents/data/000/000/186/original/E20001-A300-P720-V3-7600.pdf?1455266217](https://www.labandprocess.com/system/text_documents/data/000/000/186/original/E20001-A300-P720-V3-7600.pdf?1455266217) Accedido el 29 de noviembre de 2018.
- [146] Agilent Technologies, Detection of Sulfur Compounds in Natural Gas According to ASTM D5504 with an Agilent Dual Plasma Sulfur Chemiluminescence Detector. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-6819EN.pdf> Accedido el 29 de noviembre de 2018.

- [147] Agilent Technologies, Analysis of Low-Level Sulfur Compounds in Natural Gas and Propylene Using a Pulsed Flame Photometric Detector.  
<https://www.agilent.com/cs/library/applications/5990-9215EN.pdf> Accedido el 29 de noviembre de 2018.
- [148] Global analyser solutions, Compact GC4.0 Thermal Desorption Concentrator.  
<https://www.sepsci.co.za/wp-content/uploads/2018/08/CompactGC4.0-Pre-Concentrator.pdf> Accedido el 29 de noviembre de 2018.
- [149] Chromatotec Group, Chroma S Online monitoring & analysis of Sulphur compounds by GC/FPD (model: C51022). [https://www.environmental-expert.com/files//download/426682/7tsp\\_c51\\_chromas\\_uk\\_qs.pdf](https://www.environmental-expert.com/files//download/426682/7tsp_c51_chromas_uk_qs.pdf). Accedido el 30 de noviembre de 2018.
- [150] Geotech, GA3000 Plus, Fixed biogas and landfill gas analyzer/anaerobic digestion.  
<https://www.thermofisher.com.au/Uploads/file/Environmental-Industrial/Environmental-Monitoring-Safety/Gas-Monitoring/Landfill-Gas/GEOTECH-GA3000PLUS.pdf> Accedido el 30 de noviembre de 2018.
- [151] 3M Oldham, iTrans 2 Fixed gas detector,  
[https://gasdetection.3m.com/sites/gasdetection.3m.com/files/product-specs/GF-00174F-EN-iTrans2\\_A4Bro.pdf](https://gasdetection.3m.com/sites/gasdetection.3m.com/files/product-specs/GF-00174F-EN-iTrans2_A4Bro.pdf) Accedido el 30 de noviembre 2018.
- [152] Gastech, D-Guard gas detector. <https://gastech.com/products/gas-detectors-fixed/gas-transmitters/d-guard> Accedido el 30 de noviembre de 2018.
- [153] Odalog, Model L2. <https://www.thermofisher.com.au/Uploads/file/Environmental-Industrial/Environmental-Monitoring-Safety/Gas-Monitoring/Portable-Gas-Detectors/Odour-Monitoring/OdaLog-Logger-L2-Gas-Logger-Monitor.pdf> Accedido el 30 de noviembre de 2018.
- [154] Envent Engineering, H<sub>2</sub>S & Total Sulfur Analyzer Model 330S.  
[http://www.h2solutionsinc.com/uploads/2/9/7/3/29738017/h2\\_solutions\\_-\\_envent\\_model\\_330s-r2.pdf](http://www.h2solutionsinc.com/uploads/2/9/7/3/29738017/h2_solutions_-_envent_model_330s-r2.pdf) Accedido el 1 de diciembre de 2018.
- [155] Diteco, NovaSulf™ HG400 Series H<sub>2</sub>S Analysers. <https://hma-worldwide.com/wp-content/uploads/2016/09/Diteco-H2S-Analyser-HG400.pdf?x74343> Accedido el 1 de diciembre de 2018.
- [156] Honeywell, SPM Flex Chemcassette® Tape-Based Gas Detector.  
<http://www.raeco.com/products/fixed-gas-monitoring/Honeywell-SPM-Flex/Honeywell-SPM-Flex-ds-SS01138v3-2014-10.pdf> Accedido el 1 de diciembre de 2018.
- [157] Applied Analytics, OMA-300 H<sub>2</sub>S Analyzer. <https://aai.solutions/documents/OMAH2S.pdf> y [https://aai.solutions/documents/AA\\_AN026\\_Measuring-H2S-in-Natural-Gas.pdf](https://aai.solutions/documents/AA_AN026_Measuring-H2S-in-Natural-Gas.pdf) Accedido el 1 de diciembre de 2018.

- [158] SpectraSensors, SpectraSensors TDLAS Analyzers for Natural Gas Processing. [https://www.spectrasensors.com/media/files/files/b9954688/AN\\_10902\\_H2S\\_in\\_Natural\\_Gas.pdf](https://www.spectrasensors.com/media/files/files/b9954688/AN_10902_H2S_in_Natural_Gas.pdf) Accedido el 1 de diciembre de 2018.
- [159] Mettler Toledo, Hydrogen Sulfide Gas Analyzer: GPro 500. <https://www.mt.com/ph/en/home/products/Process-Analytics/gas-analyzer/Tunable-Diode-Laser-TDL/hydrogen-sulfide-GPro-500.html> Accedido el 1 de diciembre de 2018.
- [160] Yokowaga, Tunable Diode Laser Spectrometer TDLS8000. <https://web-material3.yokogawa.com/BU11Y01D01-01EN.pdf> Accedido el 1 de diciembre de 2018.
- [161] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for ammonia, 2004. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp126.pdf> Accedido el 3 de diciembre de 2018.
- [162] Hsu, C.-P.; Hejazi, Z.; Armagan, E.; Zhao, S.; Schmid, M.; Zhang, H.; Guo, H.; Weidenbacher, L.; Rossi, R.M.; Koebel, M.M.; Boesel, L.F.; Toncelli, C. Carbon dots and fluorescein: the ideal FRET pair for the fabrication of a precise and fully reversible ammonia sensor. *Sens. Actuators B: Chem.* **2017**, *253*, 714–722.
- [163] Behera, S.N.; Sharma, M.; Aneja, V.P.; Balasubramanian, R. Ammonia in the atmosphere: a review on emission sources, atmospheric chemistry and deposition on terrestrial bodies. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2013**, *20*, 8092–8131.
- [164] Pfenning, D.-M.; Deprez, J.; Kitzelmann, D. Electrochemical investigation of amperometric ammonia gas sensors. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 988–991.
- [165] López de Mishima, B.A.; Lescano, D.; Molina Holgado, T.; Mishima, H.T. Electrochemical oxidation of ammonia in alkaline solutions: its application to an amperometric sensor. *Electrochim. Acta* **1997**, *43*, 395–404.
- [166] de Vooy, A.C.A.; Koper, M.T.M.; van Santen, R.A.; van Veen, J.A.R. The role of adsorbates in the electrochemical oxidation of ammonia on noble and transition metal electrodes. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, *506*, 127–137.
- [167] Ji, X.; Banks, C.E.; Silvester, D.S.; Aldous, L.; Hardacre, C.; Compton, R.G. Electrochemical ammonia gas sensing in nonaqueous systems: a comparison of propylene carbonate with room temperature ionic liquids. *Electroanalysis* **2007**, *19*, 2194–2201.
- [168] Murugappan, K.; Lee, J.; Silvester, D.S. Comparative study of screen printed electrodes for ammonia gas sensing in ionic liquids. *Electrochem. Commun.* **2011**, *13*, 1435–1438.
- [169] Oudenhoven, J.F.M.; Knoben, W.; van Schaijk, R. Electrochemical detection of ammonia using a thin ionic liquid film as the electrolyte. *Procedia Eng.* **2015**, *120*, 983–986.
- [170] Sekhar, P.; Kysar, J.; An electrochemical ammonia sensor on paper substrate. *J. Electrochem. Soc.* **2017**, *164*, B113-B117.

- [171] Rout, C.S.; Hegde, M.; Govindaraj, A.; Rao, C.N.R. Ammonia sensors based on metal oxide nanostructures. *Nanotechnology* **2007**, *18*, 205504.
- [172] Dey, A. Semiconductor metal oxide gas sensors: a review. *Mater. Sci. Eng. B* **2018**, *229*, 206–217.
- [173] Sharma, A.; Bhojane, P.; Rana, A.K.; Kumar, Y.; Shirage, P.M. Mesoporous nickel cobalt hydroxide/oxide as an excellent room temperature ammonia sensor. *Scr. Mater.* **2017**, *128*, 65–68.
- [174] Xu, C.N.; Miura, N.; Ishida, Y.; Matuda, K.; Yamazoe, N. Selective detection of  $\text{NH}_3$  over NO in combustion exhausts by using Au and  $\text{MoO}_3$  doubly promoted  $\text{WO}_3$  element. *Sens. Actuators B: Chem.* **2000**, *65*, 163–165.
- [175] Ganesh, R.S.; Navaneethan, M.; Patil, V.L.; Ponnusamy, S.; Muthamizhchelvan, C.; Kawasaki, S.; Patil, P.S.; Hayakawa, Y. Sensitivity enhancement of ammonia gas sensor based on Ag/ZnO flower and nanoellipsoids at low temperature. *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, *255*, 672–683.
- [176] Su, P.G.; Yang, L.Y.  $\text{NH}_3$  gas sensor based on Pd/ $\text{SnO}_2$ /RGO ternary composite operated at room-temperature. *Sens. Actuators B: Chem.* **2016**, *223*, 202–208.
- [177] Xu, S.; Kan, K.; Yang, Y.; Jiang, C.; Gao, J.; Jing, L.; Shen, P.; Li, L.; Shi, K. Enhanced  $\text{NH}_3$  gas sensing performance based on electrospun alkaline-earth metals composited  $\text{SnO}_2$  nanofibers. *J. Alloys Compd.* **2015**, *618*, 240–247.
- [178] Wang, J.; Wei, L.; Zhang, L.; Zhang, J.; Wei, H.; Jiang, C.; Zhang, Y. Zinc-doped nickel oxide dendritic crystals with fast response and self-recovery for ammonia detection at room temperature. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 20038.
- [179] Ganesh, R.S.; Durgadevi, E.; Navaneethan, M.; Patil, V.L.; Ponnusamy, S.; Muthamizhchelvan, C.; Kawasaki, S.; Patil, P.S.; Hayakawa, Y. Low temperature ammonia gas sensing based on Mn-doped ZnO nanoparticles decorated microspheres. *J. Alloys Compd.* **2017**, *721*, 182–190.
- [180] Patil, D.R.; Patil, L.A.; Patil, P.P.  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ -activated ZnO thick film resistors for ammonia gas sensing operable at room temperature. *Sens. Actuators B: Chem.* **2007**, *126*, 368–374.
- [181] Bahu, M.; Kumar, K.; Bahu, T. CuO-ZnO semiconductor gas sensor for ammonia at room temperature. *JEDS* **2012**, *14*, 1137–1141.
- [182] Kwon, O.S.; Park, S.J.; Yoon, H.; Jang, J. Highly sensitive and selective chemiresistive sensors based on multidimensional polypyrrole nanotubes. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 10526–10528.
- [183] Sharma, A.L.; Kumar, K.; Deep, A. Nanostructured polyaniline films on silicon for sensitive sensing of ammonia. *Sens. Actuators B: Chem.* **2013**, *198*, 107–112.



- [184] Zhang, Y.; Kim, J.J.; Chen, D.; Tuller, H.L.; Rutledge, G.C. Electrospun polyaniline fibers as highly sensitive room temperature chemiresistive sensors for ammonia and nitrogen dioxide gases. *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 4005–4014.
- [185] Xue, M.Q.; Li, F.W.; Chen, D.; Yang, Z.H.; Wang, X.W.; Ji, J.H. High-oriented polypyrrole nanotubes for next-generation gas sensor. *Adv. Mater.* **2016**, *28*, 8265–8270.
- [186] Cai, J.; Zhang, C.; Khan, A.; Lianga, C.; Li, W.-D. Highly transparent and flexible polyaniline mesh sensor for chemiresistive sensing of ammonia gas. *RSC Adv.* **2018**, *8*, 5312–5320.
- [187] Pawar, S.G.; Chougule, M.A.; Sen, S.; Patil, V.B. Development of nanostructured polyaniline-titanium dioxide gas sensors for ammonia recognition. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *125*, 1418–1424.
- [188] Tripathi, A.; Misra, K.P.; Shukla, R.K. Enhancement in ammonia sensitivity with fast response by doping Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in polyaniline. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *130*, 1941–1948.
- [189] Joulazadeh, M.; Navarchian, A.H. Ammonia detection of one-dimensional nano-structured polypyrrole/metal oxide nanocomposites sensors. *Synth. Met.* **2015**, *210*, 404–411.
- [190] Khan, H.; Malook, K.; Shah, M. Highly selective and sensitive ammonia sensor using polypyrrole/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> composites. *J. Mater. Sci.: Mater. Electron.* **2017**, *28*, 13873–13879.
- [191] Chen, S.; Sun, G. High sensitivity ammonia sensor using a hierarchical polyaniline/poly(ethylene-co-glycidyl methacrylate) nanofibrous composite membrane. *Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 6473–6477.
- [192] Danesh, E.; Molina-Lopez, F.; Camara, M.; Bontempi, A.; Vásquez-Quintero, A.; Teyssieux, D.; Thiery, L.; Briand, D.; de Rooij, N.F.; Persaud K.C. Development of a new generation of ammonia sensors on printed polymeric hotplates. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 8951–8958.
- [193] Ansari, M.O.; Khan, M.M.; Ansari, S.A.; Amal, I.; Lee, J.; Cho, M.H. Enhanced thermoelectric performance and ammonia sensing properties of sulfonated polyaniline/graphene thin films. *Mater. Lett.* **2014**, *114*, 159–162.
- [194] Tiwari, D.C.; Atri, P.; Sharma, R. Sensitive detection of ammonia by reduced graphene oxide/polypyrrole nanocomposites. *Synth. Met.* **2015**, *203*, 228–234.
- [195] Xiang, C.; Jiang, D.; Zou, Y.; Chu, H.; Qiu, S.; Zhang, H.; Xu, F.; Sun, L.; Zheng, L. Ammonia sensor based on polypyrrole-graphene nanocomposite decorated with titania nanoparticles. *Ceram. Int.* **2015**, *41*, 6432–6438.
- [196] Patois, T.; Sanchez, J.B.; Berger, F.; Fievet, P.; Segut, O.; Moutarlier, V.; Bouvet, M.; Lakard, B. Elaboration of ammonia gas sensors based on electrodeposited polypyrrole-cobalt phthalocyanine hybrid films. *Talanta* **2013**, *117*, 45–54.



- [197] Kumar, J.; Shahabuddin, Md.; Singh, A.; Singh, S.P.; Saini, P.; Dhawan, S.K.; Gupta, V. Highly sensitive chemo-resistive ammonia sensor based on dodecyl benzene sulfonic acid doped polyaniline thin film. *Sci. Adv. Mater.* **2015**, *7*, 518–525.
- [198] GfG Instrumentation. Understanding catalytic LEL combustible gas sensor performance. [http://goodforgas.com/wp-content/uploads/2013/12/AP1018\\_Combustible-sensor-performance\\_6\\_30\\_13.pdf](http://goodforgas.com/wp-content/uploads/2013/12/AP1018_Combustible-sensor-performance_6_30_13.pdf). Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [199] Dräger, Ammonia 0.2 - 5 ppmv gas detection tube. [https://www.draeger.com/Library/Content/tubeshandbook\\_br\\_9092086\\_en.pdf](https://www.draeger.com/Library/Content/tubeshandbook_br_9092086_en.pdf) Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [200] Krishnan, S.T.; Son, K.H.; Kim, N.; Viswanath, B.; Kim, S.; An, J.H. Development of simple and sensitive hydrogel based colorimetric sensor array for the real-time quantification of gaseous ammonia. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *72*, 583–589.
- [201] Mills, A.; Wild, L.; Chang, Q. Plastic colorimetric film sensors for gaseous ammonia. *Mikrochim. Acta* **1995**, *121*, 225–236.
- [202] Zhou, Q.; Kritz, D.; Bonnell, L.; Sigel, G.H. Porous plastic optical fiber sensor for ammonia measurement. *Appl. Opt.* **1989**, *28*, 2022–2025.
- [203] Moreno, J.; Arregui, F.J.; Matias, I.R. Fiber optic ammonia sensing employing novel thermoplastic polyurethane membranes. *Sens. Actuators B: Chem.* **2005**, *105*, 419–424.
- [204] Tao, S.; Xu, L.; Fanguy, J.C. Optical fiber ammonia sensing probes using reagent immobilized porous silica coating as transducers. *Sens. Actuators B: Chem.* **2006**, *115*, 158–163.
- [205] Qi, Z.-M.; Yimit, A.; Itoh, K.; Murabayashi, M.; Matsuda, N.; Takatsu, A.; and Kato, K. Composite optical waveguide composed of a tapered film of bromothymol blue evaporated onto a potassium ion-exchanged waveguide and its application as a guided wave absorption-based ammonia-gas sensor. *Optics Lett.* **2001**, *26*, 629–631.
- [206] Yimit, A.; Itoh, K.; Murabayashi, M. Detection of ammonia in the ppt range based on a composite optical waveguide pH sensor. *Sens. Actuators B: Chem.* **2003**, *88*, 239–245.
- [207] Rodríguez, A.J.; Zamarreño, C.R.; Matías, I.R.; Arregui, F.J.; Domínguez Cruz, R.F.; May-Arrioja, D. A. A fiber optic ammonia sensor using a universal pH indicator. *Sensors* **2014**, *14*, 4060–4073.
- [208] Chang, Q.; Sipior, J.; Lakowicz, J.R.; Rao, G. A lifetime-based fluorescence resonance energy transfer sensor for ammonia. *Anal. Biochem.* **1995**, *232*, 92–97.
- [209] Widmer, S.; Dorrestijn, M.; Camerlo, A.; Urek, S.K.; Lobnik, A.; Housecroft, C.E.; Constable, E.C.; Scherer, L.J. Coumarin meets fluorescein: a Förster resonance energy transfer enhanced optical ammonia gas sensor. *Analyst* **2014**, *139*, 4335–4342.

- [210] Ganiga, M.; Cyriac, J. FRET based ammonia sensor using carbon dots. *Sens Actuator B-Chem* **2016**, 225, 522–528.
- [211] Hao, J.-N.; Yan, B. Simultaneous determination of indoor ammonia pollution and its biological metabolite in human body by use of a recyclable nanocrystalline lanthanide functionalized MOF. *Nanoscale* **2016**, 8, 2881–2886.
- [212] Zhang, J.; Yue, D.; Xia, T.; Cui, Y.; Yang, Y.; Qian, G.A. Luminescent metal-organic framework film fabricated on porous Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> substrate for sensitive detecting ammonia. *Microporous Mesoporous Mat.* **2017**, 253, 146–150.
- [213] Liu, W.; Liu, Y.-Y.; Do, J.-S.; Li, J. Highly sensitive room temperature ammonia gas sensor based on Ir-doped Pt porous ceramic electrodes. *Appl. Surf. Sci.* **2016**, 390, 929–935.
- [214] ENVIN Scientific Limited, Sensor Gas Chromatograph (SGC).  
<https://www.envinsci.co.uk/products/sensor-gas-chromatograph/> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [215] Agilent Technologies, Gas Chromatography and Nitrogen Chemiluminescence Detection.  
<https://www.agilent.com/en/products/gas-chromatography/gc-columns/capillary/select-low-ammonia#productdetails> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [216] Gastech, D-Guard digital gas detector. <https://gastech.com/sites/default/files/D-Guard-Datasheet.pdf>. Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [217] Environmental sensors, Ammonia Meter Z-800XP.  
<http://www.environmentalsensors.com/ammonia-monitor-z-800.html> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [218] 3M Oldham, CTX 300 analogic gas detector.  
[https://gasdetection.3m.com/sites/gasdetection.3m.com/files/product-specs/CTX%20300\\_revM.0\\_English.pdf](https://gasdetection.3m.com/sites/gasdetection.3m.com/files/product-specs/CTX%20300_revM.0_English.pdf). Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [219] NOVA, 595 series ammonia alarm monitor. <https://catalog.nova-gas.com/Asset/595%20Continuous%20Ammonia%20Monitor.pdf> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [220] DD Scientific, GS+4NH<sub>3</sub> sensor.  
[http://www.ddscientific.com/uploads/5/7/1/3/57136893/gs\\_4nh3-100\\_datasheet\\_.pdf](http://www.ddscientific.com/uploads/5/7/1/3/57136893/gs_4nh3-100_datasheet_.pdf) Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [221] SGX Sensortech, VQ41TSB ammonia sensor pellistor.  
<https://sgx.cdstore.com/Products/Detail/VQ41TSB-SGX-Sensortech/333446/> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [222] CTI Engineering, Gasguard vent line 2 ammonia sensor.  
[https://www.ctiengineering.com/images/gasguard\\_vl2\\_nh3\\_brochure.pdf](https://www.ctiengineering.com/images/gasguard_vl2_nh3_brochure.pdf) Accedido el 5 de diciembre de 2018.

- [223] Gastec, Detection tube No3L NH<sub>3</sub>.  
[https://www.gastec.co.jp/files/user/asset/pdf/en/detector\\_tube/3L.pdf](https://www.gastec.co.jp/files/user/asset/pdf/en/detector_tube/3L.pdf) Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [224] Teledyne, Chemiluminescence NH<sub>3</sub> analyzer model T201. [http://eservices.teledyne-api.com/pdfs/datasheets/T201\\_data%20sheet.pdf](http://eservices.teledyne-api.com/pdfs/datasheets/T201_data%20sheet.pdf) Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [225] Thermo Scientific, ammonia analyzer model 17i.  
<http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D00604~.pdf> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [226] Applied Analytics, OMA-300 ammonia analyzer. <https://aai.solutions/oma-ammonia-analyzer#more-info> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [227] Photonic Innovations, Ammonia OPLD 4000. <http://controlequipment.com.au/wp-content/uploads/2018/05/FLD-Data-Sheet.pdf> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [228] Mettler Toledo, Ammonia Gas Analyzer GPro 500.  
<https://www.mt.com/mx/es/home/products/Process-Analytics/gas-analyzer/Tunable-Diode-Laser-TDL/ammonia-NH3.html#documents> Accedido el 5 de diciembre de 2018
- [229] Yokowaga, Yokogawa TDLS500 (ICOS) Analyzer.  
[http://cdn2.us.yokogawa.com/product\\_TDLS500\\_GS\\_04.pdf](http://cdn2.us.yokogawa.com/product_TDLS500_GS_04.pdf) Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [230] ABB MEASUREMENT & ANALYTICS, LS4000 Diode laser analyzer. <https://search-ext.abb.com/library/Download.aspx?DocumentID=DS%2fLS4000-EN&LanguageCode=en&DocumentPartId=&Action=Launch> Accedido el 5 de diciembre de 2018.
- [231] Wolfbeis, O.S. Probes, sensors, and labels: why is real progress slow? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 9864–9865
- [232] Norris, J.O.W. Optical fiber chemical sensors: fundamentals and applications. En *Optical fiber sensor technology*; Grattan, K.T.V., Meggitt, B.T., Ed.; Springer: Boston, 2000; pp 337–378.
- [233] Wolfbeis, O.S. *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*; CRC Press: Boca Raton, 1991.
- [234] Cámara, C.; Moreno-Bondi, M.C.; Orellana, G. Chemical sensing with fiberoptic devices. En *Biosensors with fiber optics. Contemporary instrumentation and analysis*; Wise, D. L., Wingard, L. B., Ed.; Humana Press: Totowa, 1991; pp 29–84.
- [235] Orellana, G. Luminescent optical sensors. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 379, 344–346.
- [236] Lobnik, A.; Turel, M.; Urek, S.K. Optical chemical sensors: design and applications. En *Advances in chemical sensors*; Wang, W., Ed.; InTech: Shanghai, 2012; pp 3–28.
- [237] Wolfbeis, O.S. Chemical sensing using indicator dyes - applications, analysis, and future trends. En *Optical fiber sensors*; Dakin, J., Culshaw, B., Ed.; Artech House: Boston, 1997; pp 53–107.

- [238] Orellana, G.; Fluorescence-based sensors. En *Optical chemical sensors*; Baldini, F.; Chester, A.N.; Homola, J.; Martellucci, S., Ed.; NATO ASI Ser. Vol. 224, Springer: Amsterdam, 2006; pp 99–116.
- [239] Lakowicz, J.R. Principles of fluorescence spectroscopy, 3rd edn.; Springer: Singapore, 2006.
- [240] Braslavsky, S.E. Glossary of terms used in photochemistry, 3<sup>rd</sup> edition. *Pure Appl. Chem.* **2007**, *79*, 293–465.
- [241] Lippitsch, M.E.; Draxler, S.; Kieslinger, D. Luminescence lifetime based sensing: new materials, new devices. *Sens. Actuators B: Chem.* **1997**, *38*, 96–102.
- [242] Orellana, G.; García-Fresnadillo, D. Environmental and industrial optosensing with tailored luminescent Ru(II) polypyridyl complexes. En *Optical sensors*; Narayanaswamy, R., Wolfbeis, O.S., Ed.; Springer Ser. Chem. Sens. Biosens. Vol. 1, Springer: Berlin, 2004; pp 309–357.
- [243] Castro, A.M.; Delgado, J.; Orellana, G. Hydrocarbon sensing in water with luminescent Ru(II) dyes and phase-sensitive detection. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 2952–2958.
- [244] Bedoya, M.; Díez, M.T.; Moreno-Bondi, M.C.; Orellana, G. Humidity sensing with a luminescent Ru(II) complex and phase-sensitive detection. *Sens. Actuators B: Chem.* **2006**, *113*, 573–581.
- [245] Pérez-Ortíz, N.; Navarro-Villoslada, F.; Orellana, G.; Moreno-Jiménez, F. Determination of the oxygen permeability (Dk) of contact lenses with a fiberoptic luminescent sensor system. *Sens. Actuators B: Chem.* **2007**, *126*, 394–399.
- [246] Orellana, G.; Haigh, D. New trends in fiber-optic chemical and biological sensors. *Curr. Anal. Chem.* **2008**, *4*, 273–295.
- [247] López-Gejo, J.; Arranz, A.; Navarro, A.; Palacio, C.; Muñoz, E.; Orellana, G. Microsensors based on GaN semiconductors covalently functionalized with luminescent Ru(II) complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1746–1747.
- [248] Tormo, L.; Bustamante, N.; Colmenarejo, G.; Orellana, G. Can luminescent Ru(II) polypyridyl dyes measure pH? *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 5195–5204.
- [249] Descalzo, A.N.; Somoza, C.; Moreno-Bondi, M.C.; Orellana, G. Luminescent core-shell imprinted nanoparticles engineered for targeted Förster Resonance Energy Transfer-based sensing. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 5316–5320.
- [250] Haigh-Flórez, D.; de la Hera, C.; Costas, E.; Orellana, G. Microalgae dual-head biosensors for selective detection of herbicides with fiber-optic luminescent O<sub>2</sub> transduction. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *54*, 484–491.
- [251] Santos, A.R.; Escudero, D.; González, L.; Orellana, G. Unravelling the quenching mechanisms of a luminescent Ru<sup>II</sup> probe for Cu<sup>II</sup>. *Chem. Asian J.* **2015**, *10*, 622–629.

- [252] Bustamante, N.; Ielasi, G.; Bedoya, M.; Orellana, G. Optimization of the temperature sensing with polymer-embedded luminescent Ru(II) complexes. *Polymers* **2018**, *10*, 234.
- [253] Orellana, G.; Kirsch-De Mesmaeker, A.; Turro, N.J.  $^{99}\text{Ru}$  NMR spectroscopy of ruthenium(II) polypyridyl complexes. *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 882–885.
- [254] Thompson, D.W.; Ito, A.; Meyer, T.J.  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+*}$  and other remarkable metal-to-ligand charge transfer (MLCT) excited states. *Pure Appl. Chem.*, **2013**, *85*, 1257–1305.
- [255] Orellana, G.; Braun, A.M. Quantum yields of  $^3\text{MLCT}$  excited state formation and triplet-triplet absorption spectra of ruthenium(II) tris-chelate complexes containing five- and six-membered heterocyclic moieties. *J. Photochem. Photobiol.* **1989**, *48*, 277–289.
- [256] Ielasi, G.; Alcover, G.; Casellas, J.; Graaf, C.; Orellana, G.; Reguero, M. Computer-aided design of short-lived phosphorescent Ru(II) polarity probes. *Dyes Pigments* **2019**, *162*, 168–176.
- [257] Lippert, E. Spektroskopische bestimmung des dipolmomentes aromatischer verbindungen im ersten angeregten singulettzustand. *Z Electrochem.* **1957**, *61*, 962–975.
- [258] Mataga, N.; Kaifu, Y.; Koizumi, M. Solvent effects upon fluorescence spectra and the dipole moments of excited molecules. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1956**, *29*, 465–470.
- [259] Orellana, G.; Quiroga, M.L.; Braun, A.M. Spectroscopic, electrochemical and kinetic characterization of new ruthenium(II) tris-chelates containing five-membered heterocyclic moieties. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 2073–2086.
- [260] Haga, M.; Dodsworth, E.S.; Eryavec, G.; Seymour, P.; Lever, A.B.P. Luminescence quenching of the tris(2,2'-bipyrazine)ruthenium(II) cation and its monoprotinated complex. *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 1901–1906.
- [261] Anderson, P.A.; Keene, F.R.; Meyer, T.J.; Moss, J.A.; Strouse, G.F.; Treadway, J.A. Manipulating the properties of MLCT excited states. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, *0*, 3820–3831.
- [262] Mattiuzzi, A.; Jabin, I.; Moucheron, C.; Kirsch-De-Mesmaeker, A. Ru-TAP complexes with btz and pytz ligands: novel candidates as photooxidizing agents. *Dalton Trans* **2011**, *40*, 7395–7402.
- [263] Ashford, D.L.; Glasson, C.R.K.; Norris, M.R.; Concepción, J.J.; Keinan, S.; Brennaman, M.K.; Templeton, J.L.; Meyer, T.J. Controlling ground and excited state properties through ligand changes in ruthenium polypyridyl complexes. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 5637–5646.
- [264] Troian-Gautier, L.; Marcelis, L.; De Winter, J.; Gerbaux, P.; Moucheron, C. Two ruthenium complexes capable of storing multiple electrons on a single ligand - photophysical, photochemical and electrochemical properties of  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{TAPHAT})]^{2+}$  and  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{TAPHAT})\text{Ru}(\text{phen})_2]^{4+}$ . *Dalton Trans* **2017**, *46*, 15287–15300.

- [265] Ortman, I.; Moucheron, C.; Kirsch-De Mesmaeker, A. Ru(II) polypyridine complexes with a high oxidation power. Comparison between their photoelectrochemistry with transparent SnO<sub>2</sub> and their photochemistry with desoxyribonucleic acids. *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *168*, 233–271.
- [266] Orellana, G.; Moreno-Bondi, M.C. (1990) Patente Española ES2023593.
- [267] Price, J.M.; Xu, W.; Demas, J.N.; DeGraff, B.A. Polymer-supported pH sensors based on hydrophobically bound luminescent ruthenium(II) complexes. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 265–270.
- [268] Clarke, Y.; Xu, W.; Demas, J.N.; DeGraff, B.A. Lifetime-based pH sensor system based on a polymer-supported ruthenium(II) complex. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3468–3475.
- [269] Kim, H.J.; Jeong, Y.C.; Heo, J.; Rhee, J.I.; Hwang, K.-J. A wide-range luminescent pH sensor based on ruthenium(II) complex. *Korean Chem. Soc.* **2009**, *30*, 539–540.
- [270] Tormo, L.; Bustamante, N.; Colmenarejo, G.; Orellana, G. Can luminescent Ru(II) polypyridyl dyes measure pH directly? *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 5195–5204.
- [271] Orellana, G.; Moreno-Bondi, M.C.; Segovia, E.; Marazuela, M.D. Fiber-optic sensing of carbon dioxide based on excited-state proton transfer to a luminescent ruthenium(II) complex. *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2210–2215.
- [272] Borisov, S.M. Fundamentals of quenched phosphorescence O<sub>2</sub> sensing and rational design of sensor materials. En *Quenched-phosphorescence detection of molecular oxygen: applications in life sciences*; Papkovsky, D.B.; Dmitriev, R.I., Ed.; RSC Detection Sciences: London, 2018; pp 1–18.
- [273] Schweitzer, C.; Schmidt, R. Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1685–1757.
- [274] Balzani, V.; Ceroni, P.; Juris, A. Photochemistry and photophysics: concepts, research, applications; Wiley-VCH, Weinheim: Germany, 2014.
- [275] Case, F.H.; Strohm, P.F. Substituted 1,10-Phenanthrolines. XIII. The synthesis of new 4-mono- and 4,7 dialkyl- and -aryl-1,10-phenanthrolines. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 1641–1643.
- [276] Orellana, G.; Alvarez-Ibarra, C.; Quiroga, M.C. New binuclear heterocyclic ligands sharing an  $\alpha$ -diimine moiety and their ruthenium(II) tris-chelates. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1988**, *97*, 731–742.
- [277] Tyson, D.S.; Henbest, K.B.; Bialecki, J.; Castellano, F.N. Excited state processes in ruthenium(II)/pyrenyl complexes displaying extended lifetimes. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8154–8161.
- [278] Tyson, D.S.; Castellano, F.N. Intramolecular singlet and triplet energy transfer in a ruthenium(II) diamine complex containing multiple pyrenyl chromophores. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 10955–10960.

- [279] James, P.V.; Yoosaf, K.; Kumar, J.; Thomas, K.G.; Listorti, A.; Accorsi, G.; Armaroli, N. Tunable photophysical properties of phenyleneethynylene based bipyridine ligands. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, *8*, 1432–1440.
- [280] Costa, R.D.; Fernández, G.; Sánchez, L.; Martín, N.; Ortí, E.; Bolink, H.J. Dumbbell-shaped dinuclear iridium complexes and their application to light-emitting electrochemical cells. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9855–9863.
- [281] Chinchilla, R.; Nájera, C. The Sonogashira reaction: a booming methodology in synthetic organic chemistry. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 874–922.
- [282] Gelman, D.; Shaposhnikov, I. Coupling reactions between C(sp<sup>2</sup>) and C(sp) carbon centers. En *Comprehensive organic synthesis*; Knochel, P., Molander, G.A., Ed.; 2nd ed., Vol. 3, Elsevier: Amsterdam, 2014; pp 465–527.
- [283] Elangovan, A.; Wang, Y. -H.; Ho, T. -I. Sonogashira coupling reaction with diminished homocoupling. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1841–1844.
- [284] Masschelein, A.; Jacquet, L.; Kirsch-De Mesmaeker, A.; Nasielski, J. Ruthenium complexes with 1,4,5,8-tetraazaphenanthrene. Unusual photophysical behavior of the tris-homoleptic compound. *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 855–860.
- [285] Orellana, G.; Alvarez-Ibarra, C.; Quiroga, M.C. New binuclear heterocyclic ligands sharing an  $\alpha$ -diimine moiety and their ruthenium(II) tris-chelates. *Bull. Soc. Chim. Belge* **1988**, *97*, 731–742.
- [286] Kirsch-De Mesmaeker, A.; Nasielski-Hinkens, R.; Maetens D.; Pauwels, D.; Nasielski, J. Synthesis and spectroscopic and electrochemical properties of a new ruthenium complex: The tris(1,4,5,8-tetraazaphenanthrene)ruthenium(II) dication. *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 377–379.
- [287] Crutchley, R. J.; Lever, A. B. P. Ruthenium(II) tris(bipyrazyl) dication-A new photocatalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7128–7129.
- [288] Sullivan, B. P.; Salman, D. J.; Meyer, T. J. Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. *Inorg. Chem.* **1978**, *17*, 3334–3341.
- [289] Orellana Moraleda, G.; Bedoya Gutierrez, M.; Luminescent ruthenium(II) complexes and their use in pH sensors. WO Patent 2016/071465 A1, May 12, 2016.
- [290] Orellana, G.; Quiroga, M.L.; de Dios, C. Spectroscopy, electrochemistry, and photochemistry of ruthenium(II) complexes containing five-membered heterocyclic chelating ligands. *Trends in Inorganic Chemistry* **1993**, *3*, 109–130.
- [291] Xu, W.; Mehlmann, J.; Rice, J.; Collins, J.E.; Fraser, C.L.; Demas, J.N.; DeGraff, B.A.; Bassetti, M. pH sensors based on luminescent ruthenium(II) $\alpha$ -diimine complexes with diethylaminomethyl sensing groups. *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering* **1999**, *3534*, 456–465.



- [292] Lavie-Cambot, A.; Lincheneau, C.; Cantuel, M.; Leydet, Y.; McClenaghan, N. Reversible electronic energy transfer: a means to govern excited-state properties of supramolecular systems. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 506–515.
- [293] Leroy-Lhez, S.; Belin, C.; D'aleo, A.; Williams, R.M.; De Cola, L.; Fages, F. Extending excited-state lifetimes by interchromophoric triplet-state equilibration in a pyrene-Ru(II)diamine dyad system. *Supramol. Chem.* **2003**, *15*, 627–637.
- [294] André, P.L. *The Surface Properties of Silica*; Wiley: Chichester, 1999.
- [295] Ji, S.; Wu, W.; Wu, W.; Song, P.; Han, K.; Wang, Z.; Liu, S.; Guo, H.; Zhao, J. Tuning the luminescence of ruthenium(II) polypyridine complexes and its application in luminescent oxygen sensing. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 1953–1963.
- [296] Castro, A.M.; Delgado, J.; Orellana, G. Hydrocarbon in water sensing with PTFE membranes doped with a luminescent Ru(II) poly(pyridyl) complex. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 2952–2958.
- [297] Armstrong, D. A.; Huie, R. E.; Lyman, S.; Koppenol, W. H.; Merényi, G.; Neta, P.; Stanbury, D. M.; Steenken, S.; Wardman, P. Standard electrode potentials involving radicals in aqueous solution: inorganic radicals. *BioInorg. React. Mech.* **2013**, *9*, 59–61.
- [298] Kajouj, S.; Marcélis, L.; Lemaire, V.; Beljonne, D.; Moucheron, C. Photochemistry of ruthenium(II) complexes based on 1,4,5,8-tetraazaphenanthrene and 2,2'-bipyrazine: a comprehensive experimental and theoretical study. *Dalton Trans* **2017**, *46*, 6623–6633.
- [299] Blomfield, G.A.; Little, L.H.; Chemisorption of ammonia on silica. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1771–1781.
- [300] BOE-A 2013-185, Resolución de 21 de diciembre de 2012, de la Dirección General de Política Energética y Minas, por la que se modifica el protocolo de detalle PD-01 «Medición, Calidad y Odorización de Gas» de las normas de gestión técnica del sistema gasista; 2012.
- [301] Riu, J.; Rius, F.X. Assessing the accuracy of analytical methods using linear regression with errors in both axes. *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 1851–1857.
- [302] Mandel, J.; Linnig, F.J. Study of accuracy in chemical analysis using linear calibration curves. *Anal. Chem.* **1957**, *29*, 743–749.
- [303] Bedoya, M., Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, 2002.